

Frequenzrepräsentation
und Frequenzverarbeitung
in der Cochlea und im Nucleus cochlearis
der Schnurrbartfledermaus
Pteronotus parnellii

Manfred Kössl

Disbu . München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Frequenzrepräsentation und Frequenzverarbeitung
in der Cochlea und im Nucleus cochlearis der
Schnurrbartfledermaus Pteronotus parnellii**

Dissertation der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Manfred Kössl aus München

München, Juli 1987

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Neuweiler
2. Berichterstatter: Dr. Vater

Tag der mündlichen Prüfung: 26.11.1987

1.	Einleitung	1
2.	Methodik	2
3.	Ergebnisse und Diskussion	3
3.1	Ergebnisse	3
3.2	Diskussion	3
3.3	Fazit	3
4.	Literaturverzeichnis	4
5.	Anhang	5
5.1	Tabellen	5
5.2	Abbildungen	5
5.3	Formeln	5
5.4	Diagramme	5
5.5	Skizzen	5
5.6	Photografien	5
5.7	Diagramme	5
5.8	Diagramme	5
5.9	Diagramme	5
5.10	Diagramme	5
5.11	Diagramme	5
5.12	Diagramme	5
5.13	Diagramme	5
5.14	Diagramme	5
5.15	Diagramme	5
5.16	Diagramme	5
5.17	Diagramme	5
5.18	Diagramme	5
5.19	Diagramme	5
5.20	Diagramme	5
5.21	Diagramme	5
5.22	Diagramme	5
5.23	Diagramme	5
5.24	Diagramme	5
5.25	Diagramme	5
5.26	Diagramme	5
5.27	Diagramme	5
5.28	Diagramme	5
5.29	Diagramme	5
5.30	Diagramme	5
5.31	Diagramme	5
5.32	Diagramme	5
5.33	Diagramme	5
5.34	Diagramme	5
5.35	Diagramme	5
5.36	Diagramme	5
5.37	Diagramme	5
5.38	Diagramme	5
5.39	Diagramme	5
5.40	Diagramme	5
5.41	Diagramme	5
5.42	Diagramme	5
5.43	Diagramme	5
5.44	Diagramme	5
5.45	Diagramme	5
5.46	Diagramme	5
5.47	Diagramme	5
5.48	Diagramme	5
5.49	Diagramme	5
5.50	Diagramme	5
5.51	Diagramme	5
5.52	Diagramme	5
5.53	Diagramme	5
5.54	Diagramme	5
5.55	Diagramme	5
5.56	Diagramme	5
5.57	Diagramme	5
5.58	Diagramme	5
5.59	Diagramme	5
5.60	Diagramme	5
5.61	Diagramme	5
5.62	Diagramme	5
5.63	Diagramme	5
5.64	Diagramme	5
5.65	Diagramme	5
5.66	Diagramme	5
5.67	Diagramme	5
5.68	Diagramme	5
5.69	Diagramme	5
5.70	Diagramme	5
5.71	Diagramme	5
5.72	Diagramme	5
5.73	Diagramme	5
5.74	Diagramme	5
5.75	Diagramme	5
5.76	Diagramme	5
5.77	Diagramme	5
5.78	Diagramme	5
5.79	Diagramme	5
5.80	Diagramme	5
5.81	Diagramme	5
5.82	Diagramme	5
5.83	Diagramme	5
5.84	Diagramme	5
5.85	Diagramme	5
5.86	Diagramme	5
5.87	Diagramme	5
5.88	Diagramme	5
5.89	Diagramme	5
5.90	Diagramme	5
5.91	Diagramme	5
5.92	Diagramme	5
5.93	Diagramme	5
5.94	Diagramme	5
5.95	Diagramme	5
5.96	Diagramme	5
5.97	Diagramme	5
5.98	Diagramme	5
5.99	Diagramme	5
5.100	Diagramme	5

Für Puma

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. <u>Zusammenfassung</u>	1
2. <u>Einleitung</u>	5
3. <u>Material und Methoden</u>	12
3.1 Betäubung.....	12
3.2 Akustische Messungen im äußeren Gehörgang.....	12
3.3 Messung von Mikrophonpotentialen und Hörnerv- summenpotentialen in der Cochlea.....	13
3.4 Elektrische Reizung.....	14
3.5 Physiologische Inaktivierung mit Lidocain oder Kobaltchlorid.....	14
3.6 Elektrische Ableitungen und Meerrettichperoxidase Injektionen im Nucleus cochlearis.....	17
3.7 Histologische Verarbeitung und anatomische Analyse.....	18
4. <u>Abkürzungen</u>	20
5. <u>Resultate</u>	21
5.1 Cochleaphysiologie.....	21
5.1.1 Korrelation von evozierten otoakustischen Emissionen mit einem Maximum der Mikrophon- potentialamplitude.....	23
5.1.2 Maskierbarkeit von otoakustischen Emissionen und Mikrophonpotentialen durch Störschall.....	25
5.1.3 Schwellenkurven für Mikrophonpotentiale und Hörnervsummenpotentiale.....	27
5.2 Einfluß des efferenten Systems auf otoakustische Emissionen.....	29
5.2.1 Physiologische Inaktivierung der Efferenzen.....	30
5.2.2 Elektrische Reizung der Efferenzen.....	35

5.3	Frequenzabbildung im Nucleus cochlearis.....	39
5.3.1	Frequenzabstimmung von Einzelneuronen im Nucleus cochlearis.....	39
5.3.2	Meerrettichperoxidase Projektionsmuster im Nucleus cochlearis.....	48
5.4	Cochleamorphologie.....	69
5.5	Frequenzabbildung in der Cochlea.....	74
6.	<u>Diskussion</u>	82
.1	Cochlea-Frequenzabbildung im Vergleich zur Katze.....	82
.2	Cochlea-Frequenzabbildung im Vergleich zu Rhinolophus.....	83
.3	Wie korrelieren Basilarmembran-Verdickungen mit abgebildeter Frequenz und wie könnten sie die Abstimmsschärfe erhöhen ?.....	85
.4	Welche Bedeutung haben otoakustische Emissionen sionen für Abstimmsschärfe und Sensitivität und wie werden sie erzeugt ?.....	88
.5	Vergleich der Schwellenkurven von Mikrofon- potentialen und Hörnervsummenpotentialen.....	91
.6	Rolle der Efferenzen bei der Entstehung der otoakustischen Emissionen.....	93
.5	Welche Informationen über Cochleaeigenschaften lassen sich aus Einzelzellableitungen im Nucleus cochlearis gewinnen ?.....	95
.6	Frequenzrepräsentation im Nucleus cochlearis....	100
7.	<u>Literaturverzeichnis</u>	102

1. ZUSAMMENFASSUNG

Die echoortende Fledermaus Pteronotus parnellii benützt Echoortungslaute mit einer langen konstantfrequenten Lautkomponente von 61 kHz und ihr Hörsystem ist auf die Verarbeitung dieser Frequenz spezialisiert. Mit verschiedenen Arbeitsmethoden wurden die Mechanismen der Frequenzanalyse im Innenohr dieser Fledermaus untersucht.

Korrelation von otoakustischen Emissionen mit Mikrophonpotentialen und Maskierbarkeit durch Schall

Im äußeren Gehörgang von Pteronotus sind evozierte otoakustischen Emissionen meßbar, die durch cochleäre Verarbeitungsprozesse erzeugt werden. Die Emissionsfrequenz liegt einige hundert Hertz oberhalb der Ruhefrequenz der Echoortungslaute bei 61 kHz. Die Emissionsamplitude ist mit maximal 70 dB SPL um das hundertfache höher als vergleichbare otoakustische Emissionen des Menschen. Exakt bei der Emissionsfrequenz haben die neurophysiologisch gemessenen cochleären Mikrophonpotentiale ein Amplitudenmaximum. Beide Phänomene lassen sich durch simultan zum Schallreiz dargebotenen Störschall in gleicher Weise beeinflussen. Störschallfrequenzen um 61 kHz und zwischen 64 und 70 kHz führen zu maximalen Amplitudenverringernungen. Genau an der Emissionsfrequenz hat auch die Schwellenkurve der Mikrophonpotentiale ein scharfes, absolutes Minimum. Die Schwellenminima von Hörnervsummenpotentialen liegen im gleichen Frequenzbereich, sind jedoch leicht gegenüber der Emissionsfrequenz verschoben: Das Schwellenminimum des N1-off-Potentials liegt einige hundert Hertz unter, das Schwellenminimum des N1-on Potentials einige kHz über der Emissionsfrequenz.

Abhängigkeit der otoakustischen Emissionen vom efferenten System

Weder Amplitude noch Frequenz der Emissionen lassen sich durch reversible oder irreversible physiologische Inaktivierung des zu den Haarzellen der Cochlea projizierenden efferenten Neuronensystems verändern. Während elektrischer Reizung der efferenten Neurone kommt es nur zu geringen Amplitudenverringernngen der Emissionen von maximal 5.2 dB. Dies deutet darauf hin, daß entweder die Efferenzen den mechanischen Status der Haarzellen nicht stark beeinflussen, oder daß die Haarzellen tatsächlich keinen wesentlichen Einfluß auf die Emissionserzeugung nehmen. Die Erzeugung der otoakustischen Emissionen scheint somit stärker an morphologische Unstetigkeiten, i.e Reflektionspunkte in der Cochlea gebunden zu sein.

Frequenzabbildung in der Cochlea und Korrelation mit morphologischen Besonderheiten

Die Frequenzabbildungskarte der Cochlea, wurde mit Meerrettichperoxidase-Injektionen in, spezifische Frequenzen verarbeitende, Teilgebiete des Nucleus cochlearis erstellt. Das relativ enge Frequenzband zwischen 54 und 70 kHz ist auf etwa 50% der gesamten Cochlealänge expandiert abgebildet. Maximal gespreizt ist dabei der Bereich ± 1 kHz um die Ruhefrequenz, der in der Mitte der zweiten Halbwindung an einer Stelle maximaler Innervierungsdichte liegt. Basal zum Abbildungsort der Ruhefrequenz finden sich eine Reihe anatomischer Spezialisierungen. Für die mögliche Entstehung der otoakustischen Emissionen als passive Reflektionen in der Cochlea sind dabei zwei potentielle Reflektionsbereiche mit stark unstetiger Cochleastruktur besonders interessant:

- (1) Direkt basal zum Abbildungsort der Frequenz der otoakustischen Emission und der konstantfrequenten Echoortungslaut-Komponente bei 61 kHz nimmt die Basilarmembrandicke sprunghaft zu und das "Thick lining", eine Belag-

schicht der Skala tympani, verschwindet abrupt.

(2) Etwa am Abbildungsort für 70 kHz verengt sich die Skala vestibuli drastisch und die Basilarmembran ist maximal verdickt.

Eigenschaften von Neuronen des Nucleus cochlearis und mögliche cochleäre Ursachen

Etwa 30 % der im anteroventralen Nucleus cochlearis abgeleiteten Neurone haben Bestfrequenzen zwischen 61 und 63 kHz. Der Hauptanteil dieser Neurone liegt nahe an der Emissionsfrequenz des Individuums von 61.9 kHz. Neurone mit Bestfrequenzen zwischen 24 und 30 kHz und um 90 kHz sind zu einem schwächeren Grade überrepräsentiert. Die Bestfrequenz der am schärfsten abgestimmten Neurone mit Q10dB Werten zwischen 200 und 340 liegt bei etwa 61.6 und 91.1 kHz, d.h. auf der tieffrequenten Flanke der Bereiche relativ hoher Sensitivität bei 62 und zwischen 93 und 97 kHz. Es wird diskutiert inwieweit diese scharfe Abstimmung durch Auslöschvorgänge, bedingt durch Phasenverschiebungen zwischen Stimulus- und Resonatorschwingungen, in der Cochlea zustande kommen können.

Im Gegensatz zu den, normalerweise symmetrischen oder zu tiefen Frequenzen hin geöffneten, Abstimmkurven, haben Neurone mit Bestfrequenzen zwischen 61.9 und 63 kHz Abstimmkurven, die an der hochfrequenten Flanke geöffnet sind, was möglicherweise in Zusammenhang mit den basal in der Cochlea gelegenen morphologischen Besonderheiten steht.

Frequenzabbildung im Nucleus cochlearis

Anatomisch gliedert sich der Nucleus cochlearis in einen anteroventralen, einen posteroventralen und einen dorsalen Unterkern. Mittels der Meerrettichperoxidase-Injektionen konnte festgestellt werden, daß alle Unterkerne Information über den gesamten Frequenzbereich der Cochlea erhalten und tonotop aufgebaut sind. Der Bereich um die Ruhefrequenz ist in allen Unterkernen überrepräsentiert.



Zusätzlich zu den genannten Unterkernen besitzt Pteronotus eine cytoarchitektonisch abgrenzbare Gruppe sogenannter "marginal cells", welche bevorzugt auf den Bereich zwischen 24 und 30 kHz abgestimmt sind und in enger Nachbarschaft zu höherfrequenten Regionen des antero- und posteroventralen nucleus cochlearis liegen. Dadurch wird möglicherweise die spezielle Verarbeitung dieses Frequenzbereichs in höheren Stationen der aufsteigenden Hörbahn eingeleitet.

2. EINLEITUNG

Für das Zustandekommen einer "Hör"-Wahrnehmung sind zwei Qualitäten von Bedeutung: zeitliche Lautstärkeveränderungen und die Tonhöhe des Schalles. Physikalisch sind diese beide Größen beschreibbar als Amplitude und Frequenz. Die über die Mittelohrknöchelchen in die Cochlea geleiteten Schallwellen bewirken eine Auslenkung der Basilarmembran (BM), auf welcher die Rezeptorzellen (innere und äußere Haarzellen) liegen. Die Stereozilien dieser Zellen stehen mit der Deckmembran in Verbindung und die Auslenkung der BM bewirkt somit eine Scherung der Stereozilien und die Entstehung eines Rezeptorpotentials. Die Höhe des Rezeptorpotentials und damit die Entladungsrate der nachgeschalteten Spiralganglionzellen hängt von der Schallamplitude ab. Zur Erfassung der Frequenz eines Schallereignisses bedarf es noch vor der Erzeugung von Rezeptorpotentialen einer Vorverarbeitung und Aufgliederung der verschiedenen Frequenzkomponenten des Schalls. Diese Frequenztrennung wird möglich durch die komplexe mechanische Struktur der BM. Beim Säugetier nimmt die Steifheit der BM von basal, also nahe der Membran des ovalen Fensters, durch welche die Schallwellen in die Cochlea gelangen, nach apikal hin ab. Schallwellen hoher Frequenz führen zu einer bevorzugten Auslenkung der steifen basalen Membranregionen, tiefe Frequenzen sind besser geeignet die apikalen Regionen auszulenken (von Bekesy 60). In dieser Weise werden verschiedene Frequenzen an unterschiedlichen Orten der BM abgebildet und eine Hörnervenfaser codiert, bedingt allein durch die BM-Position der Haarzelle, an der sie eine Synapse bildet, eine spezifische Frequenz. Überraschend sind die große Sensivität und die hohe Frequenzauflösung des Innenohrs. Es werden sehr leise Schallereignisse ($0 \text{ dB SPL} = 20 \text{ uPa}$), korrelierbar mit Membranauslenkungen im Angströmbereich (Rhode 78, Pickles 82) detektiert. Die Frequenzauflösung ist ersichtlich aus der Schärfe der Abstimmkurven von Hörnervneuronen und Haarzellen. Als Maß für die Abstimmungsschärfe wird der $Q_{10\text{dB}}$ -Wert

verwendet, der sich ergibt aus der Bestfrequenz (BF= Frequenz des Minimums der Abstimmkurve) dividiert durch die Breite der Abstimmkurve 10 dB über dem Schwellenminimum. Bei normalen Laborsäugern werden maximale Q10dB-Werte von etwa 15 gemessen (Evans 72,75, Russell und Sellick 78, Dallos 85). Für beide Leistungen des Innenohrs dürften sowohl passive mechanische Eigenschaften von BM und umgebenden Flüssigkeitsräumen als auch aktive, physiologische Energie verbrauchende, Prozesse, die z.B. in den äußeren Haarzellen (OHC) lokalisiert sein könnten, von großer Bedeutung sein. Um den Anteil der verschiedenen mechanischen Strukturen und die Beteiligung aktiver Prozesse an der Erzeugung hoher Empfindlichkeit und Frequenzselektivität studieren zu können, ist das Innenohr bestimmter Fledermausarten besonders geeignet. Bei Fledermausarten mit einem langen konstantfrequenten Echoortungslaut findet man eine Spezialisierung auf hohe Sensitivität und scharfe Auflösung für den engen Frequenzbereich des Echoortungslautes (Neuweiler et al. 80).

Die Schnurrbartfledermaus (Pteronotus parnellii) benützt Ortungslaute, die aus einem etwa 15 ms langen konstantfrequenten Anteil (CF-Komponente) und einer daran anschließenden etwa 3 ms andauernden abwärts gerichteten Frequenzmodulation (FM-Komponente) bestehen. Die Hauptenergie des Ortungslautes liegt bei 61 kHz, was der CF-Frequenz entspricht. Diese Frequenz kann für verschiedene Individuen um ca. ± 2 kHz variieren. Die FM-Komponente reicht bis 46 kHz hinab. Daneben gibt es schwächere harmonische Anteile mit CF-Komponenten von ca. 30, 90 und 120 kHz (siehe Schnitzler 70, Suga 84, Henson et al. 87). Entsprechend ihrer aufsteigenden Frequenzstaffelung werden im folgenden die verschiedenen Harmonischen als CF/FM1,2,3,4 bezeichnet. Die zurückkehrenden Echos sind in Abhängigkeit von der Relativgeschwindigkeit zwischen der fliegenden Fledermaus und dem angeordneten Objekt in ihrer Frequenz verschoben (Dopplereffekt). Um den (meist positiven) Dopplereffekt zu kompensieren, kann Pteronotus die Frequenz der ausgesandten Laute aktiv absenken, was bewirkt, daß die

Echos immer in ein enges Frequenzband 120 Hz über der Ruhefrequenz ($RF = CF_2$ -Frequenz eines ruhenden, nicht Doppler-kompensierenden Tiers) fallen (Schnitzler 70).

Im aufsteigenden Hörsystem von Pteronotus haben Neurone, deren BF nahe bei 61 kHz liegt, relativ niedrige Schwellen und sind außerordentlich scharf abgestimmt, ersichtlich aus Q10dB-Werte von mehr als 300 (Suga et al. 75). Diese hohe neuronale Abstimmungsschärfe hat ihren Ursprung bereits in Verarbeitungsmechanismen der Cochlea, da sowohl das cochleäre Mikrophonpotential (CM) als auch das Hörnervsummenpotential (N1) bei etwa 61 kHz ein absolutes und sehr scharfes Schwellenminimum zeigen (Pollak et al. 72, Suga et al. 75). Ursache dafür sind höchstwahrscheinlich Resonanzen in der Cochlea, da nach kurzen Tonpulsen von 61 kHz starke CM-Nachschwingungen der gleichen Frequenz auftreten (Suga et al. 75, Suga und Jen 77, Pollak et al. 79, Henson et al. 85). Ähnliche, rein akustische Nachschwingungen nach kurzen Tonpulsreizen lassen sich auch mit einem Mikrophon im äußeren Gehörgang messen (Henson et al. 85, Kössl und Vater 85), was darauf hindeutet, daß sich während der cochleären Resonanz mechanische Schwingungen in der Cochlea aufbauen, die dann die Cochlea verlassen und über das Mittelohr nach außen gelangen. Diese akustischen Effekte werden in Analogie zum Menschen als evozierte otoakustische Emissionen (EOAE) bezeichnet und konnten am Menschen erstmals von Kemp (78) gemessen werden, während spontane otoakustische Emissionen, auch als objektiver Tinnitus bezeichnet, schon länger bekannt sind. Die Emissionen haben spezifische Frequenzen, die mit lokalen Minima der menschlichen Hörschwelle korreliert werden können (Zwicker und Schloth 84). An solchen Schwellenminima ist auch das menschliche Frequenzunterscheidungsvermögen erhöht (Thomas 75, Kemp 79). Die Emissionen werden beeinträchtigt durch akustische Maskierung (Kemp und Chum 80, Wilson 80a, Zwicker 81,83), durch Hypoxie (Zwicker und Manley 81) und Anaesthesie (Wilson 80b). Der letztere Befund deutet an, daß möglicherweise aktive, metabolische Energie verbrauchende, Prozesse an der Erzeugung oder Weiterleitung

der Emissionen beteiligt sind.

Grundsätzlich bieten sich zwei unterschiedliche Thesen hinsichtlich der Erzeugung der Emissionen an:

(1) Die Emissionen werden durch aktive Prozesse erzeugt, die sich höchstwahrscheinlich in den äußeren Haarzellen abspielen. Die OHC enthalten Aktin- und Myosin-Filamente (Flock und Cheung 77, DeRosier et al. 80, Macartney et al. 80) und in in vitro Versuchen konnten kontraktile Bewegungen der Haarzellen beobachtet werden (Zenner et al. 85, Brownell et al. 85, Zenner 86). Da die Emissionen von aktiven Prozessen abhängen, ist es durchaus möglich, daß die in den OHC stattfindende Umwandlung von metabolischer in mechanische Energie zur Aussendung der Emissionen führt. Da die Emissionen nur an ganz spezifischen Frequenzen auftreten, ist jedoch zusätzlich zu fordern, daß Unterschiede zwischen den Haarzellen verschiedener BM-Orte existieren und daß nur eine Teilpopulation dieser Zellen die Emission tatsächlich generiert.

(2) Bedingt durch strukturelle Unstetigkeiten liegen an bestimmten Cochleaorten Diskontinuitäten der akustischen Impedanz vor, an denen die einkommenden Schallwellen partiell reflektiert werden und dann retrograd die BM zurückwandern. Am ovalen Fenster (OW) oder einer zweiten intracochleären Unstetigkeit werden sie dann erneut reflektiert wodurch sich eine resonanzähnliche Nachschwingung aufbauen könnte, die dann als Emission erfaßbar ist.

Auch die Emissionen von Pteronotus sind in ähnlicher Weise wie beim Menschen durch Anaesthesie und maskierenden Schall beeinflusbar (Kössl und Vater 85). Im Unterschied zum Menschen, bei dem die Emissionsamplitude meist unterhalb der Hörschwelle liegt und maximal 30 dB SPL erreicht, ist die Emissionsamplitude in Pteronotus mit 70 dB SPL sehr hoch (Kössl und Vater 85). Dieser Unterschied von 40 dB oder der 100-fachen Amplitude deutet an, daß in diesem Tier starke Spezialisierungen in Hinblick auf eine besonders gute Ausprägung des Erzeugungsmechanismus der Emission stattgefunden haben.

In der Tat weist die Cochlea von Pteronotus eine Reihe anatomischer Spezialisierungen auf, die für den Resonanzmechanismus von Bedeutung sein könnten: Das Volumen der Basalwindung der Cochlea sowie das runde Fenster (RW) und der Aqueductus cochlearis (CA), die beide dem Druckausgleich dienen, sind überdimensioniert (Henson 70) (Der CA verbindet Perilymphräume der Cochlea mit Liquorräumen des Gehirns). Die Skala vestibuli verengt sich drastisch im Übergangsbereich zwischen erster und zweiter Halbwindung (Henson et al. 77). Eine dichte Belegschicht (TL: "thick lining") kleidet die Wände der Skala tympani der ersten Halbwindung aus (Pye 80, Jenkins et al. 83) und das Spiralligament ist lokal vergrößert nahe dem Zentrum der zweiten Halbwindung (Henson 78). Darüberhinaus ist die BM stark verdickt (Henson 78).

Um den anatomischen Strukturen physiologische Funktionen zuordnen zu können, wird in dieser Arbeit die exakte Lage der morphologischen Besonderheiten in Bezug auf die BM-Länge erfaßt und in Bezug zu der dort abgebildeten Frequenz gesetzt, mit besonderer Berücksichtigung der 61 kHz (CF₂-Frequenz). Zur Erstellung einer Cochleafrequenzkarte sind Meerrettichperoxidase (HRP) -Injektionen in physiologisch in ihrer BF genau bestimmte Neuronengebiete des Nucleus cochlearis (CN) besonders geeignet (Vater et al. 85). Da das Enzym von Hörnervfasern aufgenommen und retrograd zu den Spiralganglionzellkörpern und entlang ihrer Dendriten transportiert wird, kann der Verlauf markierter Fasern bis hin zu den afferenten Endigungen an den Haarzellen bestimmt und dadurch der Frequenzabbildungsort definiert werden.

Neben der Zuordnung von Frequenzabbildungsort und morphologischer Struktur soll in physiologischen Experimenten versucht werden, die Emissionen zu beeinflussen, um dadurch möglicherweise Aufschluß zu gewinnen über den ihnen zugrunde liegenden Mechanismus.

Um zu testen, ob es tatsächlich bevorzugte Cochleaorte gibt, an denen es zu Reflektionen oder anderen für die Emissionsgenerierung wichtigen Vorgängen kommt, werden akus-

tische Maskierungsexperimente durchgeführt. Maskierung mit sehr lauten Tönen von 95 dB SPL führt vor allem bei Beschallungsfrequenzen zwischen 60 und 70 kHz zu einer Verringerung der Emissionsamplitude (Kössl und Vater 85). Da es jedoch bei diesen hohen Pegeln zu Verschiebungen des Wanderwellenmaximums und zu nichtlinearen Verzerrungen kommen kann, soll in der vorliegenden Arbeit mit niedrigeren, physiologisch relevanteren Pegeln maskiert werden, um anhand der effektivsten Beschallungsfrequenzen die BM-Orte definieren zu können, die für die Emissionsaussendung von Bedeutung sind.

Um die Rolle der OHC für die Emissionsaussendung zu untersuchen, ist es nötig sie selektiv zu beeinflussen. Da direkte Eingriffe in der Cochlea sehr leicht zu irreversiblen Schädigungen führen können, soll hier versucht werden, die OHC indirekt über eine Manipulation des efferenten Systems zu beeinflussen. Das efferente System besteht aus Neuronen, deren Zellkörper im oberen Olivenkomplex des Hirnstammes lokalisiert sind, und deren Axone zu den Haarzellen der Cochlea projizieren (Rasmussen 46, Liberman und Brown 86). Es gibt zwei Subpopulationen efferenter Neurone: Die laterale Gruppe kontaktiert vor allem die afferenten Endigungen an den inneren Haarzellen (IHC). Die Axone der Zellen der medialen Gruppe bilden große Synapsen an der Basis der OHC (Warr und Guinan 79, Guinan et al. 83). Elektrische Reizung der Efferenzen führt zu einem Anstieg der CM-Amplitude (Desmedt und Monaco 61) und zu einer Schwellenerhöhung von Hörnervfasern (Galambos 56, Wiederhold und Kiang 70). Die Funktion der Efferenzen ist noch weitgehend unklar. Möglicherweise verringern sie Maskierung von Tönen durch Störschall (Nieder und Nieder 70) oder sie erhöhen die cochleäre Frequenzselektivität (Carlier und Pujol 82). Für die Untersuchung otoakustischer Emissionen ist es von Interesse, daß es während elektrischer Reizung der Efferenzen zu mechanischen Änderungen in der Cochlea kommt, die anhand von Schalldruckveränderungen im äußeren Gehörgang erfaßbar sind (Mountain 80, Siegel und Kim 82, Guinan 86).

Die Injektion von HRP in lokale Bereiche des Nucleus cochlearis ermöglicht nicht nur das Erstellen einer Cochlea-frequenzkarte, sondern gibt auch Aufschluß über die Frequenzrepräsentation in den einzelnen Unterkernen des CN, da jede Hörnervfaser über Kollaterale in alle Unterkerne projiziert (Ramon y Cajal 09, Lorente de No 33, Osen 70). Wie bei anderen Säugern besteht der CN von Pteronotus aus 3 Unterkernen, dem anteroventralen (AV), dem posteroventralen (PV) und dem dorsalen CN (DCN). Daneben gibt es eine von Zook und Casseday (82) dem AV zugeordnete Gruppe großer multipolarer Zellen, die sogenannten "marginal cells", welche bislang nur für Pteronotus beschrieben sind. Die vorliegende Arbeit möchte feststellen, ob in den verschiedenen Unterkernen des CN die Frequenzabbildung der Cochlea beibehalten wird, wie stark die Überrepräsentation des CF2 Bereiches ist, und inwieweit es bereits auf der CN-Ebene zu Spezialisierungen und Abbildungsveränderungen kommt. Denn am Ende der aufsteigenden Hörbahn, in bestimmten Arealen des sekundären auditorischen Cortex, ist die ursprüngliche Tonotopie stark verändert zugunsten einer Umordnung nach Kombinationen verschiedener harmonischer Frequenzen (O'Neill und Suga 79,82; Suga 84).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Betäubung

Für alle chirurgischen Eingriffe wurden die Tiere mit einem 3% Halothan/Luft Gemisch betäubt. Die physiologischen Messungen erfolgten dann meist frühestens am nächsten Tag am wachen Tier.

3.2 Akustische Messungen im äußeren Gehörgang

Zur Messung otoakustischer Emissionen wurde ein Bruel und Kjaer (B&K) 4135 Mikrophon (1/4 inch) mit Koppleraufsatz in den externen Gehörgang eingeführt. Der Koppler bestand aus einer Eppendorf-Pipettenspitze, die auf die individuellen Gehörgangdimensionen angepaßt war. Die Kopplerspitze war in ihrer Dimension so ausgelegt, daß sie den Gehörgang nicht völlig abschloß und der, unter Freifeldbedingungen durch einen in 3 cm Entfernung zum Gehörgang positionierten Lautsprecher applizierte, Schallstimulus Zugang zum Trommelfell hatte. Der Frequenzgang des Kopplers hatte maximale Schwankungen von 3 dB zwischen 40 und 90 kHz.

Die otoakustischen Emissionen wurden als "synchrone evozierte otoakustische Emissionen" (SEOAE) gemessen. Dabei wurde als evozierender Schallstimulus mit einem HP 3594A Oszillator ein Dauerton linear ansteigender Frequenz mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von 100 Hz/s erzeugt. Die mit dem Mikrophon aufgenommenen Signale wurden in einen HP 3590A Wave Analyzer gespeist, der seine Referenzfrequenz vom Oszillator erhielt und auf eine Analysebandweite von 100 Hz eingestellt war. Bei dieser Bandweite betrug der Rauschpegel des Gesamtsystems 15 ± 5 dB SPL im Frequenzbereich um 60 kHz.

Bedingt durch Interferenz der, den Gehörgang verlassenden, Emission mit dem ankommenden Schallstimulus, konnte die Emission als Abfolge eines Maximums und Minimums im Frequenzgang identifiziert werden. Die relative Ausprägung

von Maxima und Minima hing ab von der Stellung des Kopplers im äußeren Gehörgang. Aus der Tiefe dieses Amplitudenverlaufes wurde in einigen Fällen (Abb.9) der absolute Schallpegel der Emission errechnet.

3.3 Messung von Mikrophonpotentialen und N1-Summenpotentialen in der Cochlea

Es wurden Wolframelektroden, die bis auf etwa 200 um Entfernung zur ca. 30 um durchmessenden Spitze mit Glas isoliert waren, stereotaktisch in die Skala Tympani der Basalwindung durch die Öffnung des Aquäduktus cochlearis eingeführt (Henson und Pollak 72). Sofort nach der ersten erfolgreichen Erfassung von CM wurde die Einführung gestoppt um Schädigungen der Cochlea oder des Aquäduktus zu vermeiden. Dies war insofern kritisch, als es in früheren Versuchen (Kössl und Vater 85) nicht möglich war nach erfolgter Elektrodeneinführung noch otoakustische Emissionen zu messen. In den hier dargestellten Versuchen war die otoakustische Emission nach Einführung der Elektrode unverändert und konnte bei einem untersuchten Tier über einen Zeitraum von 7 Wochen gemeinsam mit den Cochleapotentiale gemessen werden. Zur Erfassung des CM-Amplitudenverlaufes wurden dieselben Reiz- und Analysebedingungen wie für die SEOAE-Messung verwendet. Für die CM- und N1-Schwellenbestimmungen wurden kurze Tonpulse von 10 ms Dauer und 0.1 ms Anstieg- und Abfallzeit verwendet. Um aus dem gemessenen Signal die CM herauszufiltern, wurde ein Krohn-Hite 3323 Filter als 10 kHz Hochpass eingestellt. Für die N1 Potentiale wurden zwei Krohn-Hite Filter als Bandpass (100 Hz - 5 kHz) geschaltet. Die derart gefilterten Signale konnten dann mit einem PDP 11/23 Computer gemittelt werden (32-fach).

3.4 Elektrische Reizung

Für die unipolare elektrische Reizung der efferenten Nervenbahnen zur Cochlea wurden ebenfalls glasisolierte unipolare Wolframelektroden gleicher Dimension wie oben verwendet. Als Reize dienten positive Pulse von 100 μ s Dauer, die mit einer Wiederholrate von 200-500 Hz entweder kontinuierlich oder in Zügen von 60-150 ms Länge mit einem Stimulator appliziert wurden. Die Reizstromstärke betrug 10-100 μ A.

3.5 Injektion von Lidocaine und COCl₂ bei gleichzeitiger Ableitung neuronaler Aktivität.

Für die Ausschaltung der Efferenzen war es nötig größere Neuronengebiete zu inaktivieren. Dazu wurden nach Malpeli und Schiller (79), Malpeli und Burch (82) und Lee und Malpeli (86) Lidocain- oder COCl₂-Volumina zwischen 14 und 112 nl mittels Druck in das entsprechende Hirngebiet injiziert (Näheres siehe Resultate). Um die Injektions-elektrode richtig im Zielgebiet plazieren zu können, war es wichtig, mit derselben Elektrode auch neuronale Aktivität ableiten zu können. Aus diesem Grund wurde die Glaskapillare, in deren Inneren sich die zu injizierende Flüssigkeit befand, mit einem elektrisch leitendem Überzug versehen.

Gemäß einer etwas vereinfachten Version der Methode von Malpeli und Schiller (79) werden zunächst die Spitzen der Glaskapillaren durch Hitze (erhitzter Wolframdraht eines Elektrodenziehgerätes) versiegelt. Die stumpfen Enden werden mit Glaspulver angefüllt und ebenfalls durch Erhitzen verschlossen. Danach werden die Elektroden gereinigt :

- a. Waschen in heißem Detergens (10 Min.)
- b. Spülen mit destilliertem Wasser (3 x)
- c. Waschen in heißem 95% Alkohol (10 Min.)
- d. Spülen mit destilliertem Wasser (2 x)
- e. Einweichen in heißer KOH (100 g in 125 ml Wasser gelöst) (40 Min.)

Sodann wird aus einer alkalischen AgNO_3 Lösung ein Silberspiegel auf die Elektrodenaußenseite ausgefällt :

Reduktionslösung: Löse 80 g Zucker in 700 ml dest. Wasser, füge 125 ml 100% Äthanol und 3 ml HNO_3 konz. hinzu; zum Schluß mit dest. Wasser auf 1 l auffüllen.

Silber Nitrat Lösung : Löse 1 g AgNO_3 in 50 ml dest. Wasser. Füge tropfenweise 30% NH_4OH hinzu bis sich der dunkle Niederschlag fast völlig bis auf einen schwachen Schleier wieder aufgelöst hat. Füge 5 ml 10% KOH hinzu, es bildet sich ein weißer Niederschlag, der mit NH_4OH wieder bis auf einen schwachen Schleier aufgelöst wird.

- f. Eintauchen des Glases in frisch gefilterte Zinnchloridlösung (3 g auf 100 ml dest. Wasser) (4-5 s)
- g. Waschen in dest. Wasser (3 x)
- h. Mische 12 ml Reduktionslösung mit 48 ml Silbernitratlösung und lasse die untersten 5 cm der Elektroden 8 Min. in dieser Lösung. Die obersten 2-3 cm sollen nicht versilbert werden, um eine visuelle Kontrolle der injizierten Flüssigkeitsmenge zu gewährleisten.
- i. Spüle in fließendem dest. Wasser (mehrmals) um Silberpartikel zu entfernen
- j. Wasche in 100% Äthanol und trockne die Elektroden (15 Min.)

Die Elektrodenspitze wird nun mit einer feineren Silberschicht versehen :

- k. Entferne etwa die letzten 5 mm des Silberbelages der Elektrodenspitze mit HNO_3 (70 %)
 - l. Waschen in dest. Wasser (2 x)
 - m. Einweichen der untersten 6 mm der Elektrode in heißer KOH (5 Min.)
 - n. Waschen in dest. Wasser (3 x)
 - o. Schritt f. und g. für die untersten 6 mm
 - p. Schritte h. (1 Min 50 sec) bis j. für die untersten 6 mm
- Auf die Silberschicht werden Kupfer- und Goldschichten elektrolytisch appliziert :
- q. Die untersten 15 mm der Elektrode werden nach kurzer Reinigung in Dest Wasser und Alkohol in eine

Kupfersulfatlösung (70 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ und 2.5 ml H_2SO_4 in 1 l dest. Wasser gelöst) gehalten und für 15 s mit 5 Volt in Serie mit einem 300 Ohm Widerstand elektrolysiert

- r. Waschen in dest. Wasser
- s. Schritt q. für die obersten 15 mm der Elektrode (60 s)
- t. Elektrolytische Beschichtung der untersten 15 mm mit Gold aus einer kommerziell erhältlichen Goldlösung (z.B. Aurobond) 25 s, 5 Volt in Serie mit 5000 Ohm;
- u. Waschen in dest. Wasser
- v. Isolieren der Elektrodenspitze mit einer Isolierlösung (z B. Insl-X von Insl-X Products Corp. Yonkers NY). Gleichmäßiger Belag wird erreicht, indem die Elektrode mit einem Elektrodenvorschub mit konstanter Geschwindigkeit in die Isolierlösung gefahren wird.
- w. Trocknen bei 150 °C für 30 Min.
- x. Waschen in 100% Xylol
- y. Schritt v.-x. können je nach Bedarf 2 bis 6 mal wiederholt werden
- z. Breche die versiegelten Elektrodenspitzen unter Mikroskopkontrolle auf und platinisiere die Spitzen mit 400 nA für 25 s (Platinisierlösung : 0.5 g Platinchlorid und 5 mg Bleitetraacetat in 50 ml dest. Wasser lösen und dann 0.5 ml 1-3% Gelatinelösung hinzugeben)

Auf das hintere Ende der Elektrode wird dann ein Metallröhrchen aufgeklebt, welches das Verbindungsstück zu dem Plastikschlauch darstellt, über den mit Hilfe einer Spritze Druck appliziert wird. An den oberen Bereich der Elektrode, welcher nicht versilbert worden war, wird nun ein Stück Papier geklebt, auf dem sich feine Striche in 0.5 oder 0.25 mm Abstand befinden. Dadurch wird es möglich mit einem Binokular das Absinken des Flüssigkeitsspiegels während Druckapplikation zu beobachten und somit die injizierte Flüssigkeitsmenge zu kontrollieren. Ich verwendete Glasskapillaren mit einem inneren Durchmesser von 0.38 mm, d. h. bei einer Flüssigkeitsspiegelsenkung um 1 mm wurden 112 nl injiziert.

3.6 Elektrophysiologische Ableitungen und Meerrettichperoxidase-Injektionen im Nucleus cochlearis

Unter Halothananaesthesia wurde mit Zahnzement und Akrylkleber ein Metallstift auf dem Schädeldach angebracht um ein Fixieren des Schädels während der Ableitungen zu ermöglichen. Feine Glaselektroden (gefüllt mit 3 M KCl, Widerstände 4 bis 15 MOhm) wurden dann von dorsal durch das Kleinhirn stereotaktisch in den CN eingeführt. Mittels in regelmäßigen Abständen (50 oder 100 μ m) parallel geführten Elektrodenpenetrationen wurden die BF und Abstimmkurven der Neurone erfaßt. Bei einem Tier wurden über mehrere Wochen hinweg möglichst breitgestreut aus allen Teilgebieten des AV und der "marginal cells" 151 Neurone aller BF abgeleitet um ein Gesamtbild über die physiologischen Eigenschaften des Unterkerns zu erhalten.

An 12 anderen Tieren wurden Teilbereiche des AV und PV, in denen bestimmte Frequenzen repräsentiert waren, besonders detailliert erfaßt. In diese Teilgebiete wurde dann mit einer HRP-gefüllten Elektrode (10% HRP von Sigma in Acetat Puffer pH 7.4; Widerstand 10-20 MOhm; Spitzendurchmesser 3-6 μ m), mit der ebenfalls noch Vielfachableitungen durchgeführt wurden, um die BF am Injektionsort genau zu bestimmen, das Enzym iontophoretisch injiziert (positiver Strom von 0.5 oder 1 μ A; verabreicht für 4-14 Min, insgesamt 4-8 μ A x Min). 10 Tiere erhielten je eine HRP-Injektion, einem Tier wurden zwei Injektionen in deutlich distinkte Gebiete des selben CNs verabreicht, ein weiteres Tier erhielt je eine Injektion sowohl in den linken als auch in den rechten CN.

Ein weiteres Tier erhielt eine Injektion von Weizenkeimagglutinin (WGA) - HRP (3 mg/ 7.5 μ l Ringer; 3.5 μ A x Min). Da bei dem in diesem Experiment verwendeten WGA-HRP offensichtlich die Kopplung des HRP an das WGA aufgebrochen war, wurde es nicht axonal transportiert und die Injektion konnte nur zur Markierung des Ableitortes verwendet werden.

3.7 Histologische Verarbeitung und anatomische Analyse

Nach Überlebenszeiten von 24-28 h wurden die Tiere mit einer Überdosis Nembutal (5 mg/100 g Körpergewicht) getötet und intracardial perfundiert mit physiologischer Kochsalzlösung (0.9 %; 30 ml) gefolgt von Fixierlösung (1.25 % Glutaraldehyd, 1 % Paraformaldehyd, 2,5 % Saccharose in 0.05 M Phosphatpuffer, pH 7.4; 160 ml) und 5% Saccharose in 0.05 M Phosphatpuffer (40 ml). Das Gehirn und die Cochlea ipsilateral zum Injektionsort wurden dann herauspräpariert. Das Gehirn wurde über Nacht in 0.1 M Phosphatpuffer mit aufsteigenden Saccharosekonzentrationen (10, 20, 30%) belassen und dann mit einem Kryostaten geschnitten (Schnittdicke 42, 48 oder 54 μ m). Alternierende Schnitte wurden mit Tetramethylbenzidin (TMB) (Mesulam 78) oder Diaminobenzidin (DAB) (Adams 77) reagiert um das HRP-Reaktionsprodukt nachzuweisen und mit Neutralrot oder Cresylechtviolett gegengefärbt. Die Cochlea wurde in 7.5% EDTA (pH 7.4) bei 4 °C für 60-85 h entkalkt, in 15% Gelatine eingebettet und in der Transversalebene, d.h. parallel zum Modiolus, gefrier geschnitten (42 oder 54 μ m). Die sofort auf Objektträger aufgezogenen Schnitte wurden mit DAB reagiert und mit Neutralrot gegengefärbt. Um die BM-Dicke zu bestimmen, wurden drei in Paraffin eingebettete Cochleae transversal mit 12 μ m Schnittdicke geschnitten und Trichrom-gefärbt (Goldner 38).

Die HRP-Markierungen in CN und Cochlea wurden mit einem Lichtmikroskop (70-100 fache Vergrößerung) im Hellfeld, Dunkelfeld und mit Normarski-Optik analysiert. Es wurden detaillierte Zeichnungen der Gehirnschnitte (100-fache Vergrößerung) angefertigt um den Injektionsort, den Verlauf und die Terminationsfelder der markierten Nervenfasern und die Lage der retrograd gefüllten Neurone in den Unterkernen zu erfassen. Diese Zeichnungen konnten dann verwendet werden, um die Elektrodenpenetrationen und die HRP-Terminalfelder zu rekonstruieren. Ein Gehirn (Doppelinjektion bei 46/60.6 kHz) wurde dabei als Normserie verwendet und

Terminalgebiete für alle anderen Injektionen entsprechend angepaßt, so daß die Erstellung eines Gesamt-Frequenzabbildungsschemas für den CN möglich wurde.

Die Cochleaschnitte wurden ebenfalls detailliert gezeichnet (40-73 fache Vergrößerung) und die Lage der markierten Spiralganglionzellen sowie deren afferenter Dendriten wurde sorgfältig bestimmt. Um aus diesen Daten die Lage der Terminationsgebiete auf der BM genau bestimmen zu können, wurden die Zeichnungen visuell auf gleiche Referenzpunkte angeglichen, mit einem Graphik-Tablett (Kontron) in einen Computer eingegeben (PDP 11/23) und mit speziellen Auswertprogrammen (entwickelt von Matthes Betz) dreidimensional rekonstruiert. Die Länge der BM wurde ausgerechnet durch Aufaddieren der Distanzen zwischen benachbarten BM-Anschnitten. Vor der Längenberechnung wurde eine Fünf-Punkt Glättungsroutine dreimal angewendet.

Cochlearekonstruktionen in der Horizontalebene (Abb.32b) wurden benützt, um den BM-Abschnitt zu bestimmen, an dem die markierten afferenten Dendriten der Spiralganglionzellen terminierten. Die Lage dieser Fortsätze auf Habenulaebene oder in einigen Fällen ihre Synapse an den inneren Haarzellen wurde benutzt für die Zuordnung von Cochleaort zu der im CN an der Injektionsstelle gemessenen Frequenz. Die markierten Fasern folgten dem Verlauf der morphologisch vorgegebenen Faserbündel (Abb.32a). In zwei Fällen (29.3 und 59.6 kHz Injektion), in denen die markierten Fasern nicht weit genug verfolgt werden konnten, wurde ihr Terminationspunkt abgeschätzt anhand dieser morphologischen Faserbündel. Das geometrische Zentrum der Terminationsfelder auf der BM wurde definiert als der Cochleaort, an dem die entsprechende Frequenz abgebildet wird. Die Frequenz war gegeben durch die BF der Neurone, welche am Injektionsort mit der HRP-Elektrode abgeleitet werden konnten. Um der Streuung der BF nahe am Injektionsort Rechnung zu tragen, wurden je nach Größe der Injektion die BF von Neuronen, abgeleitet in ± 70 bis 100 um Entfernung zum Zentrum des Injektionsortes, als Maß für die Breite des erfaßten Frequenzbandes verwendet.

4. Abkürzungen

ACH	= Acetylcholin
AV	= anteroventraler Nucleus cochlearis
AVa	= anteriorer AV
AVp	= posteriorer AV
BF	= Bestfrequenz
BM	= Basilarmembran
CA	= Aquäduktus cochlearis
CF	= konstantfrequenter Anteil der Echoortungslaute
CM	= Mikrophonpotential
CN	= Nucleus cochlearis
COCB	= gekreuztes olivocochleäres Bündel
DAB	= Diaminobenzidin
DCN	= dorsaler Nucleus cochlearis
DMPO	= dorsomedialer periolivärer Nucleus
DPO	= dorsaler periolivärer Nucleus
EOAE	= evozierte otoakustische Emission
FM	= frequenzmodulierter Anteil der Echoortungslaute
HRP	= Meerrettichperoxidase
IHC	= innere Haarzellen
LSO	= laterale oberer olivärer Nucleus
ma	= "marginal cells"
mal	= laterale ma-Zellen
mam	= mediale ma-Zellen
MSO	= medialer oberer olivärer Nucleus
N1	= früheste Komponente des Hörnervsummenpotentials
OAE	= otoakustische Emission
OHC	= äußere Haarzellen
OW	= ovals Fenster
PP	= pars pectinata
PT	= pars tecta
PV	= posteroventraler Nucleus cochlearis
PVC	= caudaler PV
PVl	= lateraler PV
PVm	= medialer PV
RF	= Ruhefrequenz
RW	= rundes Fenster
SEOAE	= synchrone evozierte otoakustische Emission
SOC	= oberer Olivenkomplex
TMB	= Tetramethylbenzidin
TL	= "thick lining", Skala Tympani-Belagschicht
WGA	= Weizenkeimagglutinin
VIII	= Hörnerv

5. RESULTATE

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Reihe unterschiedlicher Methoden verwendet, um über verschiedene Aspekte von Frequenzverarbeitung und -abbildung in Cochlea und CN Aufschluß zu gewinnen. Zunächst wird auf die Cochleaphysiologie eingegangen (5.1), auf rein akustische Messungen otoakustischer Emissionen und elektrische Summenpotentialmessungen in der Cochlea. Weiterhin wird der Einfluß des efferenten Systems auf die hydromechanischen Vorgänge in der Cochlea untersucht (5.2). Die Abstimmeigenschaften von Einzelzellen im Nucleus cochlearis werden vor allem in Hinblick auf cochleäre Verarbeitungsmechanismen erfasst (5.3.1) und die anatomische Frequenzrepräsentation im CN mittels HRP-Injektionen erstellt (5.3.2). Zum Abschluß werden die morphologischen Cochleaparameter dargestellt (5.4) und mit der HRP-Frequenzkarte der Cochlea korreliert (5.5).

5.1 Cochleaphysiologie

Da die Ruhefrequenz von Pteronotus individuell unterschiedlich ist (Kössl und Vater 85), und entsprechend auch die Bereiche schärfster Frequenzabstimmung differieren, war es gerade für den Vergleich von otoakustischen Emissionen und Cochleapotentialem wichtig, möglichst vollständige Messungen an einem einzigen Tier durchzuführen. Am selben Tier erfolgten darüberhinaus auch Maskierungen mit Störschall.

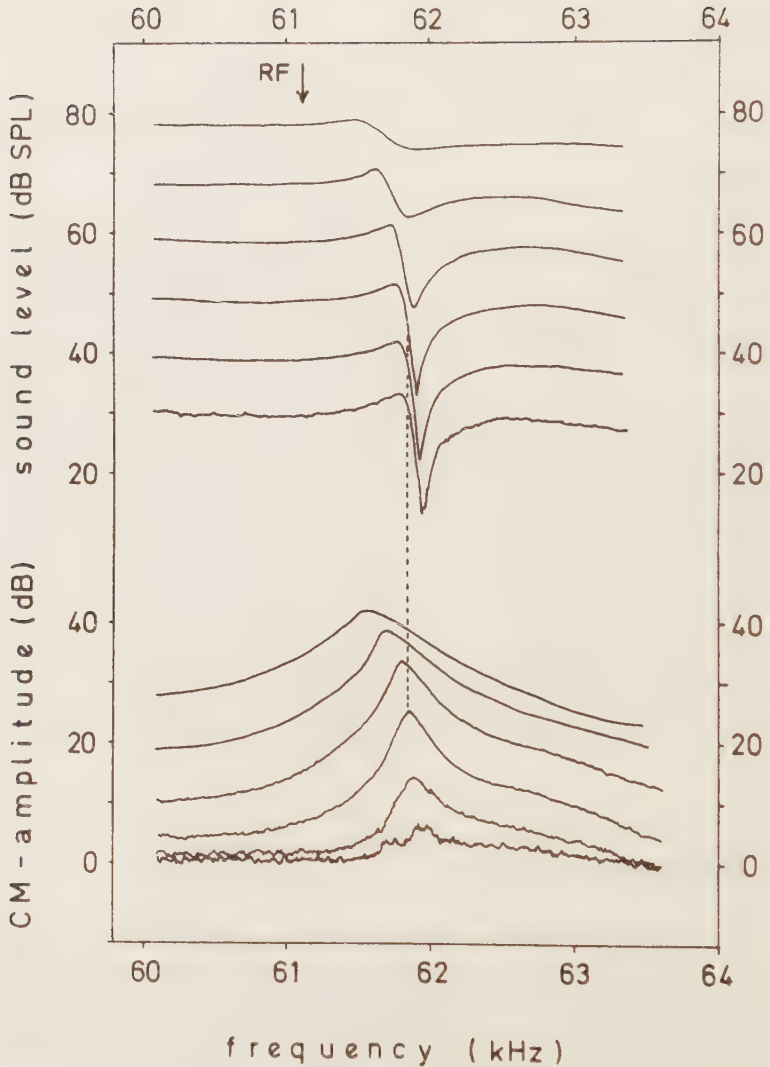


ABB.1 Simultane evozierte otoakustische Emissionen (SEOAE) und Mikrophonpotentiale (CM) desselben Individuums. oben: Die SEOAE-Interferenzfigur, bestehend aus Amplitudenmaximum und -minimum, liegt etwa 700 Hz über der Ruhefrequenz (RF); 6 Durchläufe mit ansteigendem Stimuluspegel zeigen eine deutliche Sättigung der Emission oberhalb ca. 60 dB SPL Stimuluspegel; unten: Die den obigen 6 Messungen zugehörigen CM-Amplituden zeigen ein Maximum, dessen Frequenz mit dem Wendepunkt der SEOAE-Interferenzfigur zusammenfällt.

5.1.1 Korrelation von evozierten otoakustischen Emissionen mit einem Maximum der Mikrofonpotentialamplitude

Im äußeren Gehörgang wurden SEOAE mit Hilfe eines Mikrophones mit Koppleraufsatz in einem akustisch offenen System gemessen. Durch Interferenz der aus dem Gehörgang austretenden Emissionen mit dem Dauertonstimulus sind an der Emissionsfrequenz scharfe Maxima oder Minima des Frequenzganges feststellbar (Abb.1, oben). Die relative Größe dieser Extrema zueinander ist abhängig von der Position des Kopplers im äußeren Gehörgang. Im vorliegenden Fall wurde der Koppler derart positioniert, daß sowohl deutliche Maxima als auch Minima erkennbar waren. Die Tiefe der Maxima und Minima blieb bis etwa 60 dB SPL Stimuluspegel konstant und nahm bei höheren Pegeln kontinuierlich ab. Dies entspricht der von Kössl und Vater (85) bestimmten Sättigung der Emissionsamplitude bei etwa 70 dB SPL Emissionspegel. Der absolute Emissionspegel läßt sich aus der Tiefe der Interferenzmuster berechnen (Kössl und Vater 85, Abb.9). Im vorliegenden Fall liegt die Interferenzfigur etwa 700 Hz über der RF des Tieres (Frequenzbestimmung bei 50 dB SPL Stimuluspegel). Mit Reizintensitäten über 60 dB SPL verschoben sich beide Extrema geringfügig zu tieferen Frequenzen.

Parallel dazu durchgeführte Messungen der CM zeigten ein absolutes Amplitudenmaximum der Potentiale bei 61.80 kHz, etwa 700 Hz oberhalb der RF (bei 50 dB SPL Stimuluspegel). Die Frequenz des CM-Maximums fällt somit genau mit dem Wendepunkt der SEOAE-Interferenzfigur zusammen. Dieser Wendepunkt wird als SEOAE-Frequenz definiert. Für Intensitäten über 60 dB SPL kam es zu einer, von einer leichten Frequenzverschiebung begleiteten Sättigung des CM-Amplitudenmaximums. Da nicht nur die Frequenz, sondern auch das Sättigungsverhalten von Emissionen und CM-Amplitudenmaximum übereinstimmen, sind beide Phänomene offensichtlich eng aneinander gekoppelt. Bei konstantem Reizpegel blieb die Frequenz des CM-Maximums sehr stabil (Gesamtmessdauer von 7 Wochen), nur während starker akustischer Maskierung verschob sie sich um einige hundert Hertz nach unten. Derartige Verschiebungen waren immer begleitet von einer gleichen Verschiebung der SEOAE-Frequenz.

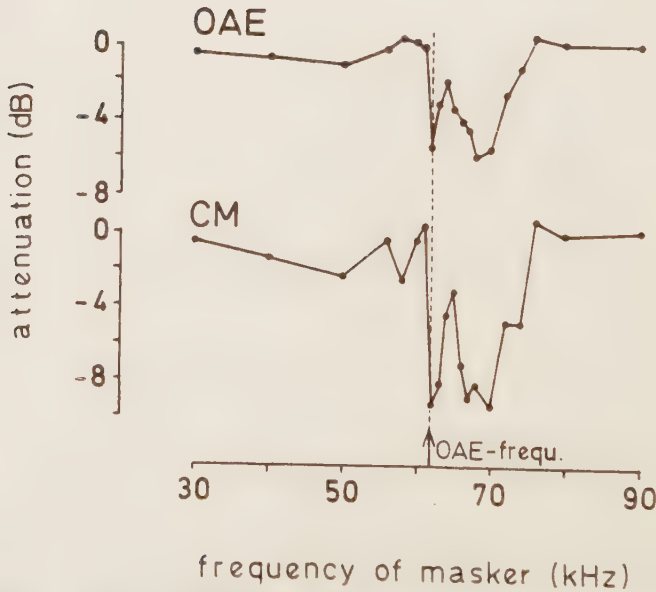
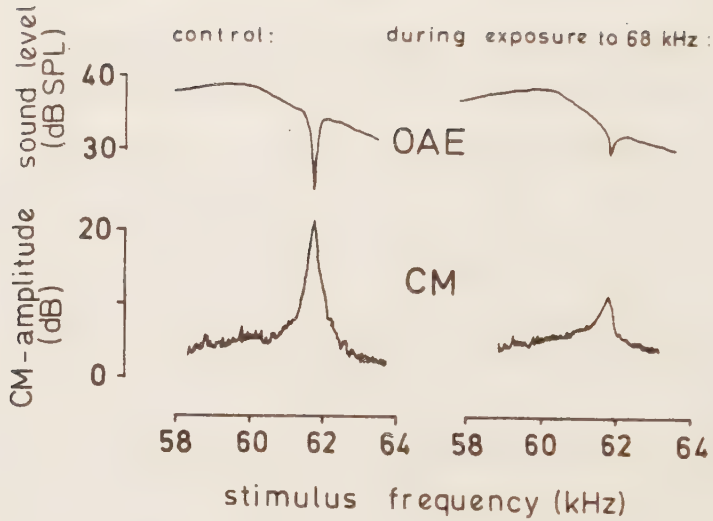


ABB.2 Verringerung der SEOAE und CM-Amplituden während akustischer Maskierung. oben: Beispielfall für eine Maskierung mit einem Störton von 68 kHz und 50 dB SPL. unten: Abhängigkeit der Amplitudenverringerungen von der Frequenz des Störtones: Störfrequenzen bei 62 und zwischen 66 und 70 kHz beeinflussen am effektivsten.

5.1.2 Maskierbarkeit von otoakustischen Emissionen und Mikrophonpotentialen durch Störschall

Um Aufschluß zu gewinnen über die cochleären Bereiche, die zur Erzeugung der Emissionen und des stark ausgeprägten CM-Maximums beitragen, wurde versucht, beide Phänomene durch simultan zum evozierenden Tonstimulus dargebotene Störtöne spezifischer Frequenz zu beeinflussen. Im Gegensatz zu der von Kössl und Vater (85) verwendeten Nachverdeckung kann bei diesem Versuchsansatz ausgeschlossen werden, daß der gemessene Effekt durch verschieden schnelle Erholzeiten für unterschiedliche Frequenzen möglicherweise verzerrt wird. Darüberhinaus kann mit niedrigeren Störpegeln in Schwellennähe gearbeitet werden, wodurch irreversible Schädigungen der Cochlea vermieden werden und ein physiologisch relevanter Intensitätsbereich untersucht werden kann.

Dem Tier wurde als evozierender Tonstimulus ein Dauerton kontinuierlich ansteigender Frequenz zwischen 58 und 64 kHz mit einer Intensität von etwa 35 dB SPL angeboten. Die Intensität war ausreichend um sowohl SEOAE als auch CM-Maximum gut als distinkte Extrema messen zu können (Abb.2 oben links). Ein Frequenzdurchlauf dauerte 40 s. Während dieser Zeit wurde zusätzlich Störschall von 50 dB SPL mit einer konstanten Frequenz zwischen 30 und 90 kHz verabreicht (Abb.2 oben rechts). Sowohl SEOAE als auch das CM-Maximum konnten in der Amplitude verringert werden. Zu ihrer Unterdrückung waren sowohl Störfrequenzen nahe der Eigenfrequenz der zu störenden Phänomene (62 kHz) als auch ein Frequenzbereich zwischen 66 und 70 kHz besonders effektiv (Abb.3 unten). Auch in diesem Fall waren Veränderungen von SEOAE und CM aneinander gekoppelt. Störfrequenzen zwischen 63 und 65 kHz waren deutlich weniger effektiv. Im Gegensatz zu Kössl und Vater (85) konnte keine signifikante Verschiebung der Emissionsfrequenz beobachtet werden. Dies kann entweder an den unterschiedlichen Störpegeln (95 und 50 dB SPL) oder am Unterschied zwischen Nach- und Simultanverdeckung liegen.

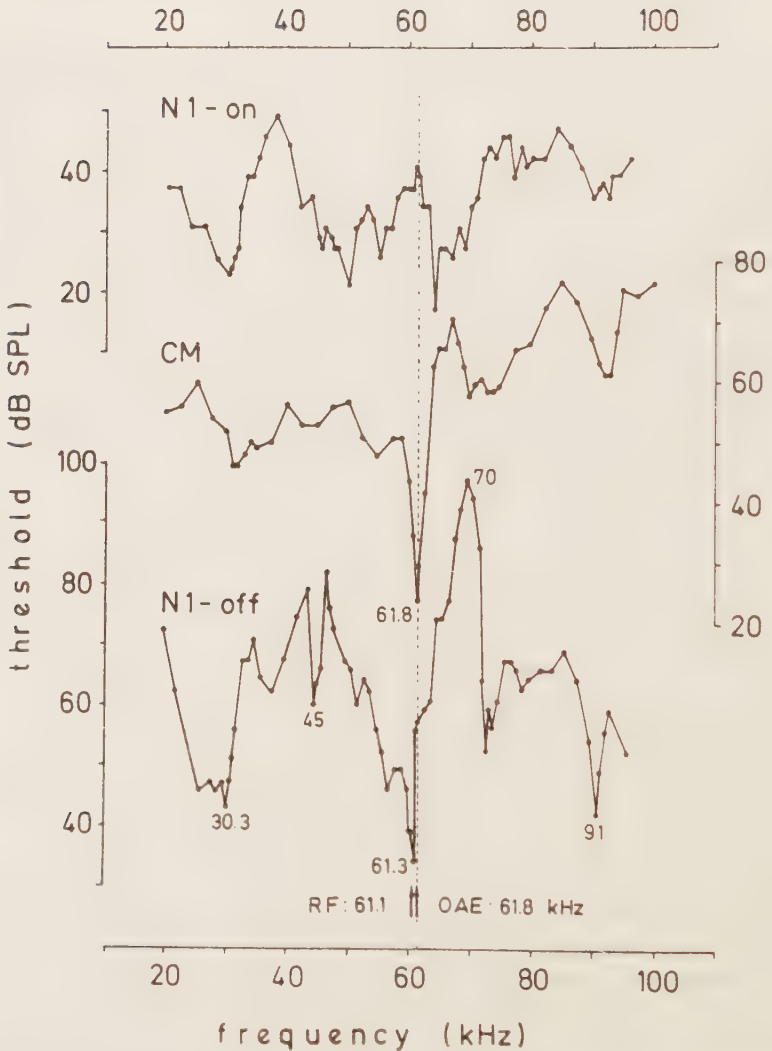


ABB.3 Schwellenkurven von N1-on, N1-off und CM-Potentialen. Die absoluten Minima aller drei Kurven liegen über der RF; das CM-Minimum fällt mit der SEOAE-Frequenz zusammen, die N1-off Schwellenkurve zeigt neben dem absoluten Minimum bei 61.3 kHz weitere deutliche relative Minima bei 30.3, 45 und 91 kHz und ein absolutes Maximum bei 70 kHz; verwendeter Tonstimulus: 10 ms Dauer, 0.1 ms Anstieg/Abfallzeit.

5.1.3 Schwellen von Mikrofonpotentialen und Hörnervsummenpotentialen

Am selben Tier, an welchem die obigen Messungen durchgeführt wurden, wurden unter Verwendung von kurzen Tonpulsreizen im Bereich zwischen 20 und 100 kHz CM- und N1-Schwellen bestimmt.

Die Schwellenkurve der CM zeigt bei 61.8 kHz ein deutliches Minimum von 23 dB SPL (Abb.3 Mitte). An derselben Frequenz befindet sich das CM-Amplitudenmaximum und die SEOAE-Interferenzfigur. Die CM-Schwelle für andere Frequenzen ist etwa 30 dB höher, wobei zusätzliche, schwächer ausgeprägte relative Minima bei 31, 70 und 92 kHz auftreten.

Das N1-Potential besitzt zwei Komponenten. Die on-Komponente tritt mit einer Latenz von 1.5 ms zu Reizbeginn auf (Schallstrecke 12 cm), die off-Komponente erscheint kurz nach Reizende (Grinnell 70, Suga et al. 75). Ein absolutes Minimum der N1-on Schwelle liegt bei 64 kHz (15 dB SPL). Dieses ist jedoch im Vergleich zu den Minima der Schwellenkurve bei anderen Frequenzen nicht sehr prominent.

Die N1-off Schwelle weist sehr deutliche Extrema auf. Das absolute Schwellenminimum liegt bei 61.3 kHz (32 dB SPL), wobei vor allem eine sehr steile hochfrequente Flanke auffällt: Bereits bei 61.6 kHz liegt die Schwelle 21 dB über dem Minimum. Bei 30.3, 45, 73, und 91 kHz befinden sich weitere gut abgrenzbare relative Minima. Darüberhinaus existiert ein sehr auffallendes absolutes Schwellenmaximum bei 70 kHz (95 dB SPL).

Die Schwellenminima aller drei Potentiale liegen überhalb der RF des Tieres (61.1 kHz), wobei das N1-on Minimum 2.2 kHz oberhalb und das N1-off Minimum 500 Hz unterhalb des CM-Minimums von 61.8 kHz liegt.

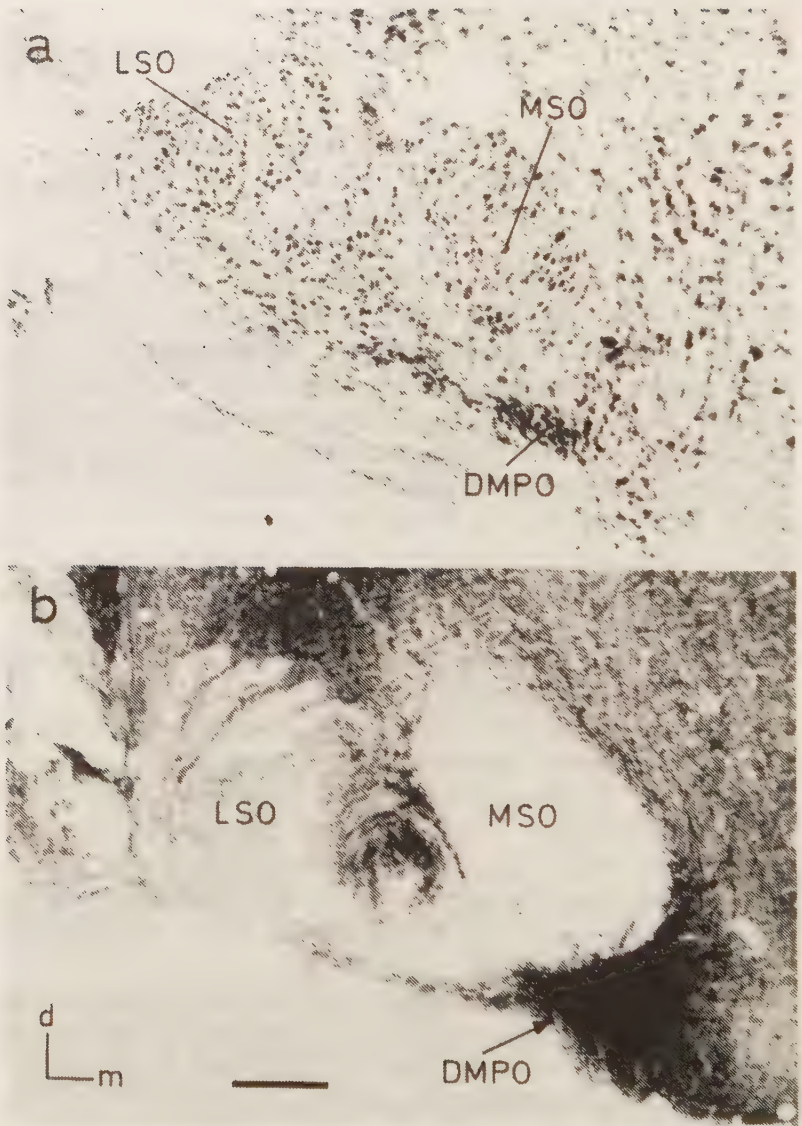


ABB.4 Oberer Olivenkomplex mit efferenten Neuronen.
a: Nissl-Zellkörperfärbung, b: ACh-esterasefärbung,
 die perioliväre efferente Zellgruppe des DMPO weist maxi-
 male Dichte des Reaktionsproduktes auf (Balken = 200 μ m).

5.2 Einfluß des efferenten Systems auf otoakustische Emissionen

Otoakustische Emissionen entstehen durch Verarbeitungsvorgänge in der Cochlea, an denen sowohl passiv mechanische Strukturen als auch aktive Prozesse beteiligt sind. Ausgehend von der Hypothese, daß die OHC eine Rolle als aktive hydromechanische Elemente spielen, wurde getestet, ob die Erzeugung der OAE durch Beeinflussung der OHC modifiziert wird, indem das zu diesen Rezeptorelementen ziehende efferente System chemisch lädiert oder elektrisch gereizt wurde.

Efferente Neurone im oberen Olivenkomplex (SOC) von Säugern sind acetylcholinerg und akustisch erregbar. Ihre Axone projizieren in die Cochlea. Bei Pteronotus finden sich oliväre acetylcholinerge Neurone hauptsächlich im medio-ventral zur medialen oberen Olive (MSO) gelegenen "dorso-medialen periolivären Nucleus" (DMPO) (Abb.4a,b). Dieser Kern besteht aus dicht gepackten mit Cresylechtviolett relativ dunkel färbenden multipolaren Zellen (Zook und Casseday 82, ABB.4a) und entspricht wahrscheinlich der medialen efferenten Zellgruppe (Bishop et al. 85). Daneben gibt es zwischen lateraler oberer Olive (LSO) und MSO einige acetylcholinerge Zellen die dem dorsalen periolivären Nucleus (DPO) zuzuordnen sind und dem lateralen efferenten System entsprechen (siehe Abb.4b).

Für die Cochleamechanik besonders interessant ist vor allem das zu den OHC projizierende mediale System. Deshalb wurde zunächst das Gebiet um den DMPO physiologisch näher bestimmt. Abb.5 zeigt einen Fall, in dem in neun systematischen Penetrationen die BF und Binauralität von Neuronen in DMPO und MSO bestimmt wurden. An sechs Stellen wurden elektrische Läsionen (2-4 uA, 2-4 Minuten) gesetzt (dunkle Quadrate), die an mit Cresylechtviolett gefärbten Schnitten nach Beendigung des Experimentes wiedergefunden wurden (gestrichelte Bereiche). Dadurch war es möglich die physiologisch untersuchten Neurone den entsprechenden Kerngebieten

(dicke durchgezogene Linien) zuzuordnen. Der hier untersuchte, sehr medial gelegene SOC-Bereich, verarbeitete vor allem Frequenzen oberhalb der RF des Tieres (RF: 61.3; SEOAE: 62.46 kHz). Die Neurone waren alle contralateral erregbar. Neurone, deren ipsilaterale Erregbarkeitsschwelle mehr als 40 dB über der contralateralen Schwelle lagen, wurden als O/E-Neurone eingestuft (O steht für nicht erregbar, E für erregbar, das erste Zeichen steht für ipsilateral, das zweite contralateral), da ihre scheinbare ipsilaterale Erregbarkeit im Bereich des akustischen Übersprechens zwischen beiden Ohren lag (etwa 40-60 dB Übersprechabstand je nach Frequenz). Neurone deren ipsilaterale Schwelle weniger als 40 dB Abstand zur contralateralen Schwelle hatte, wurden als ipsilateral erregbar gewertet und mit E/E bezeichnet. E/E-Neurone lagen vor allem im DMPO und den dorsalen Randgebieten der MSO, wo ebenfalls verstreute acetylcholinerge perioliväre Zellen zu finden sind. Im Rest des hier dargestellten MSO-Anschnittes gab es fast ausschließlich O/E-Zellen.

5.2.1 Physiologische Inaktivierung der Efferenzen

In den physiologisch und anatomisch charakterisierten efferenten Zellgebieten wurde zunächst versucht, die Zellen reversibel physiologisch zu inaktivieren durch Injektionen von 2% Lidocain Hydrochlorid oder 4 mM CoCl_2 . Gleichzeitig wurden SEOAE gemessen um eventuelle Veränderungen der Cochleamechanik festzustellen. Obwohl die mit Druck injizierten Volumina von 14-112 nl nach Malpeli and Schiller (79) ausreichend sein sollten, Hirnareale von ca 100 um bis 500 um Durchmesser zu inaktivieren, veränderte sich weder Frequenz noch Tiefe der SEOAE-Interferenzfiguren. Auch Messungen verzögerter evozierter otoakustischer Emissionen (siehe Kössl und Vater 85) zeigten keine Beeinflussung durch die injizierten Chemikalien. Lediglich bei 2 Tieren, die innerhalb von ca. 2 h mehreren Lidocain Injektionen unterzogen wurden (insgesamt 348 bzw. 148 nl), verringerte

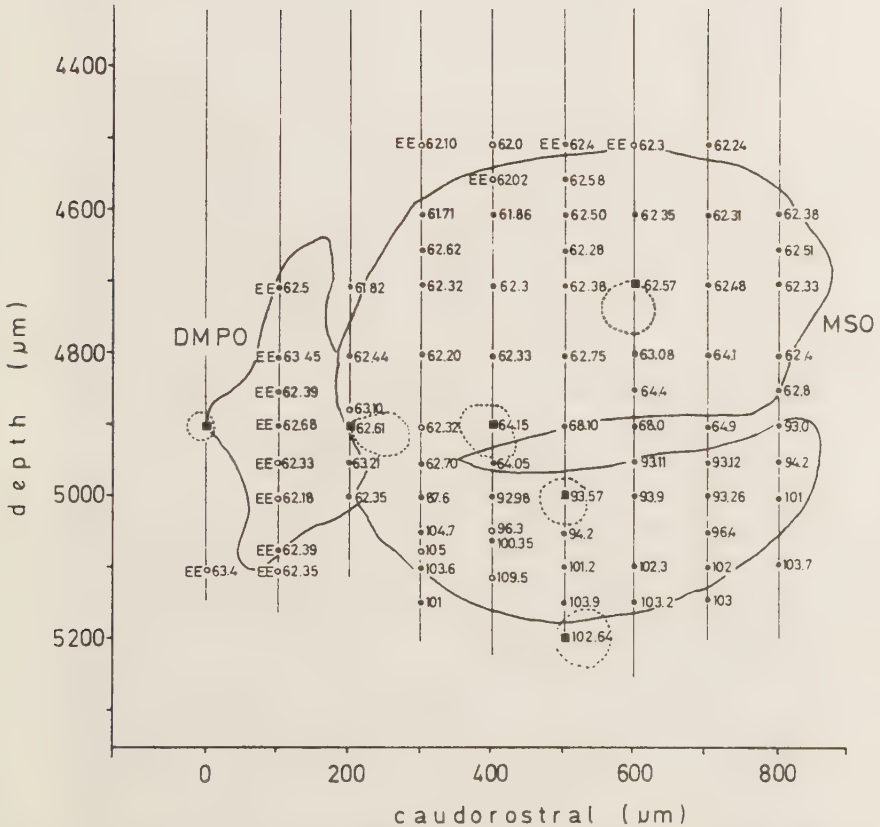


ABB.5 Serie von Elektrodenpenetrationen durch MSO und DMPO. An bestimmten Punkten (Quadrate) wurden elektrische Läsionen gesetzt, die in den mit Cresylechtviolett gefärbten Schnitten wieder auffindbar waren (gepunktete Bereiche) und somit eine anatomisch-physiologische Zuordnung erlaubten. Zu jedem Ableitpunkt ist die BF und die Binauralität der neuronalen Antwort angegeben (keine Angabe bedeutet 0/E); Vielfachableitungen (gefüllte Kreise), Einzelzellableitungen (leere Kreise).

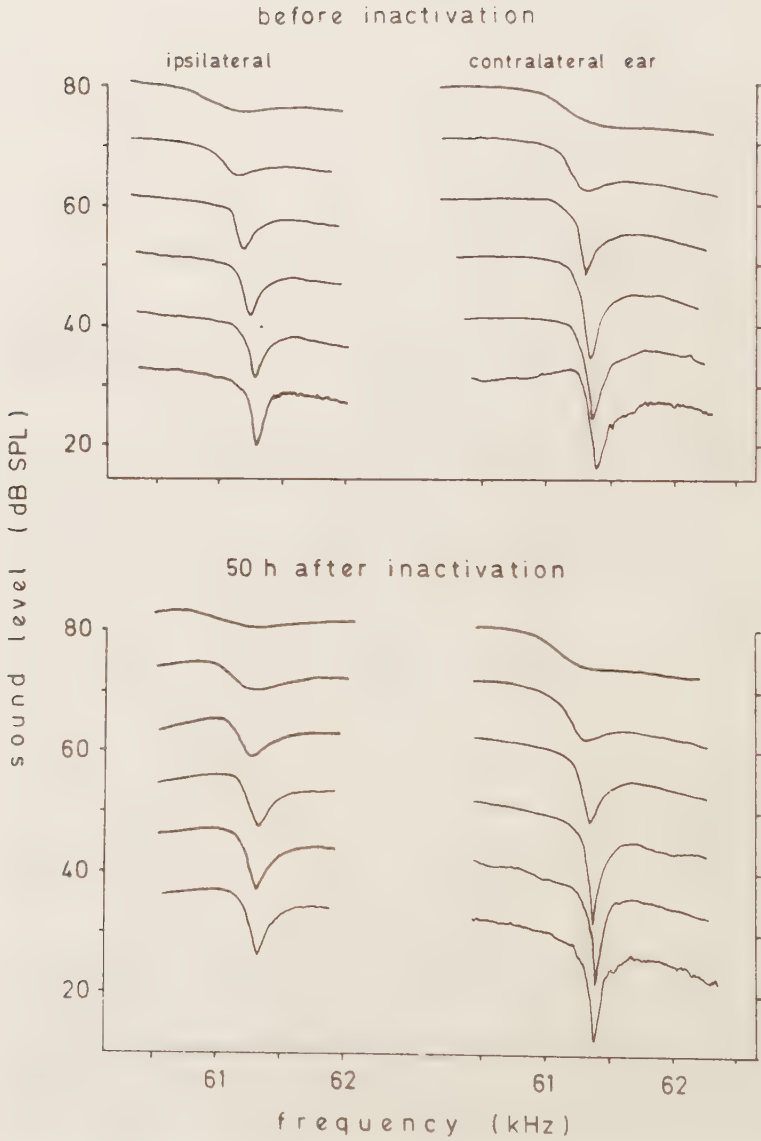


ABB.6 SEOAE vor und nach Läsion des SOC-Komplexes durch Injektion von 1008 nl Kobaltchlorid (8mM). Es treten keine signifikanten Veränderungen ein.

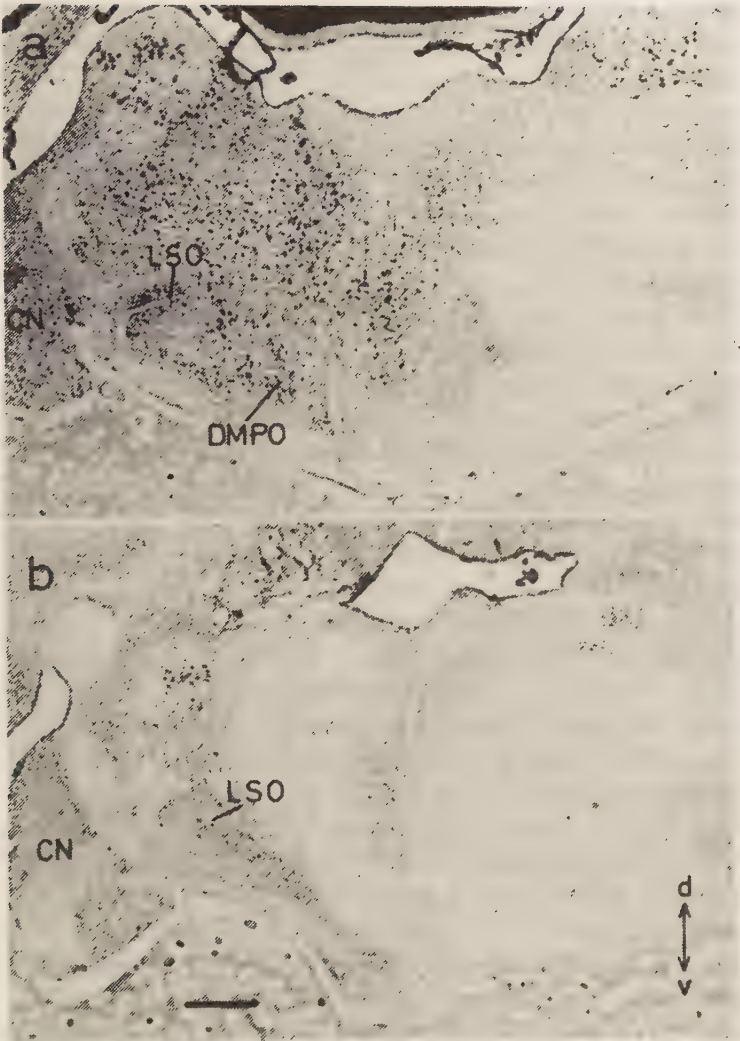


ABB.7 Transversalschnitte (Cresylechtviolett Zellkörperfärbungen) des Hirnstammes zweier läsionierter Tiere. Der SOC-Komplex wurde einseitig (a) oder beidseitig mit Ausnahme der von lateralen LSO-Bereichen (b) zerstört. Nähere Erklärung siehe Text (Balken = 400 μ m).

sich die SEOAE-Amplitude deutlich. Das eine Tier starb sofort nach den Injektionen, das andere innerhalb etwa einer Stunde. Aus diesem Grund wird der erzielte Lidocain-Effekt keiner spezifischen Wirkung der Efferenzen sondern einer unspezifischen Ausschaltung wichtiger vegetativer Funktionen zugeordnet. Mit CoCl_2 , welches im Gegensatz zu Lidocain nur Zellen, jedoch keine durchlaufenden Fasern reversibel inaktiviert, konnte weder die Emission beeinflusst werden noch starben die Versuchstiere. Dies deutet an, daß die unspezifische Wirkung von Lidocain auf der Inaktivierung durchlaufender Fasern beruht.

Da reversible Inaktivierungen keinen Einfluß auf die Emissionen zeigten, wurden an zwei Tieren irreversible Läsionen des SOC durch Injektion größerer Volumina CoCl_2 erzeugt (siehe Lee and Malpeli 86). Beim ersten Tier wurden innerhalb 1 h an drei verschiedenen Orten im SOC neun Volumina von je 112 nl 8 mM CoCl_2 injiziert. Das Tier zeigte bis zum Zeitpunkt der Perfusion (50 h nach Abschluß der Injektionen) weder im ipsi- noch im contralateralen Ohr signifikante Veränderungen in Emissionsamplitude oder -frequenz (siehe Abb.6). Geringe Schwankungen liegen innerhalb der normalen Abweichungen, die durch verschiedene Kopplereinführungen (der Mikrophonkoppler konnte nicht 50 h in derselben Position belassen werden) bedingt sind. Abb.7 zeigt einen Schnitt durch den Hirnstamm dieses Tieres, woraus deutlich wird, daß auf der Injektionsseite der gesamte Olivenkomplex bis auf wenige Zellen in der lateralen LSO zerstört worden war. Die Läsion hatte etwa einen Durchmesser von ca. 1300 μm . Beim zweiten Tier wurden an einem Tag 224 nl 0.5 M Glutamat am dorsalen Rand der MSO injiziert, wodurch MSO, DMPO und auch Teile des DPO zerstört wurden. Am nächsten Tag wurde auf der contralateralen Seite wiederum an drei Orten acht Volumina CoCl_2 injiziert was ähnlich wie beim ersten Tier zu einer völligen Zerstörung des SOC führte. Während der Überlebenszeit von 33 h kam es auch bei diesem Tier zu keiner Änderung der Emissionen in beiden Ohren. Durch diese Versuche konnte ausgeschlossen werden, daß für die Erzeugung der Emissionen und auch für ihre

Stabilisierung in Frequenz und Amplitude eine tonische Aktivität seitens des efferenten Systemes notwendig ist.

5.2.2 Elektrische Reizung der Efferenzen

Da die Inaktivierung der Efferenzen keine signifikanten Auswirkung auf die otoakustischen Emissionen hatte, wurde getestet, ob die Emissionen durch elektrische Aktivierung der Efferenzen beeinflussbar sind. Hierzu wurde die Reizelektrode entweder im DMPO, im gekreuzten olivocochleären Bündel (COCB), in welchem die nach contralateral laufenden efferenten Axone lokalisiert sind, oder direkt in der Cochlea positioniert (In Anlehnung an Rajan und Johnstone 83). Die elektrischen Pulse waren 100 μ s lang und wurden mit 200 bis 500 Hz Wiederholrate entweder kontinuierlich oder in Zügen von 60 -150 ms Länge appliziert. Die Reizstromstärke betrug zwischen 10 und 100 μ A. Mit Stromstärken zwischen 10 und 50 μ A ließ sich wiederholt eine sehr geringe Amplitudenverringerung der SEOAE sowohl bei Reizung im COCB als auch im DMPO bewirken. Abb.8 zeigt leicht verkleinerte Interferenzminima während kontinuierlicher efferenter Reizung (25 μ A, 400 Hz Wiederholrate). Zwischen den einzelnen Tonstimulusdurchläufen wurden jeweils Erholzeiten von 5 min ohne elektrische Reizungen eingelegt, da der beobachtete Effekt mit zunehmender Dauer der elektrischen Reizung abnahm. Bestimmt man aus der Tiefe der Interferenzminima den SEOAE-Pegel (Abb.9: obere Kurven: leere Symbole kennzeichnen SEOAE ohne efferente Reizung, ausgefüllte Symbole mit efferenter Reizung), so zeigt sich, daß die Pegelabnahme bei efferenter Reizung zwischen 0.5 und maximal 5.2 dB liegt (Mittelwert 1.6 dB) für SEOAE-Pegel zwischen 10 und 69 dB SPL. Die Größe des, diesen Pegelabnahmen entsprechenden, efferenten Effekts, definiert als Absolutpegel der Differenz zwischen den Emissionspegeln ohne und mit efferenter Reizung (nach Guinan 86) ist in den unteren Kurven von Abb.9 aufgetragen und erreicht maximal ca. 55 dB SPL. Der efferente Effekt liegt deutlich unterhalb des SEOAE-Pegels (-17.4 ± 4.0 dB) und des Stimuluspegels (-23.8 ± 3.9 dB). Der letztere Wert ist

sehr ähnlich zu der, bei der Katze bestimmten Differenz von -20 dB zwischen dem im äußeren Gehörgang meßbaren Schallpegel und dem efferenten Effekt bezüglich dieses Schallpegels (Guinan 86). Ich interpretiere die Effekte als Anzeichen, daß keine spezielle Einwirkung der Efferenzen auf die Emissionen vorliegt, sondern daß die Veränderungen der Emissionsamplitude lediglich Variationen der Gesamtmechanik der Cochlea widerspiegeln, wie sie von Guinan (86) auch meßbar sind als Stimuluspegeländerungen für einen weiten Bereich von Stimulusfrequenzen. Es muß jedoch betont werden, daß in Pteronotus derartige Gesamtpegeländerungen während spezifischer efferenter Reizung mit geringen Stromstärken nicht auftraten (siehe auch unten). Das Verhältnis von efferentem Effekt zum SEOAE-Pegel ist unabhängig von der Stimuluslautstärke (siehe Abb.9). Die Pegelabnahmen bei efferenter Reizung waren reversibel und die Messungen erfolgten bei unveränderter Kopplerpositionierung. Mit Reizstromstärken höher als 50 uA verringerte sich in einigen Fällen die Emissionsamplitude drastischer oder aber die Emissionen verschwanden völlig, gleichzeitig jedoch vokalisierte das Tier (tieffrequent, keine Ortungslaute!) oder zeigte Zuckungen der Gesichtsmuskulatur. Wahrscheinlich wurde mit diesen hohen Stromstärken das, dem SOC benachbarte, Kerngebiet des Nucleus facialis mit gereizt. Nur in diesen Fällen verringerte sich die Emissionsamplitude drastisch und gleichzeitig nahm auch der Gesamtschallpegel im äußeren Gehörgang ab. Deshalb muß angenommen werden, daß die Mittelohrmuskeln oder Muskeln, die Formveränderungen des äußeren Gehörgangs bewirken, aktiviert worden waren und das Verschwinden der Emissionen ein unspezifischer Effekt war. CM-Kontrollmessungen waren während der efferenten Reizung nicht möglich, bedingt durch ein starkes Stimulusartefakt, welches sich auch durch diverse Filter nicht abblocken ließ. Deshalb kann auch bei den oben besprochenen spezifischeren geringen Pegelabnahmen der Emission die Einwirkung von Mittelohrmuskeln nicht ausgeschlossen werden.

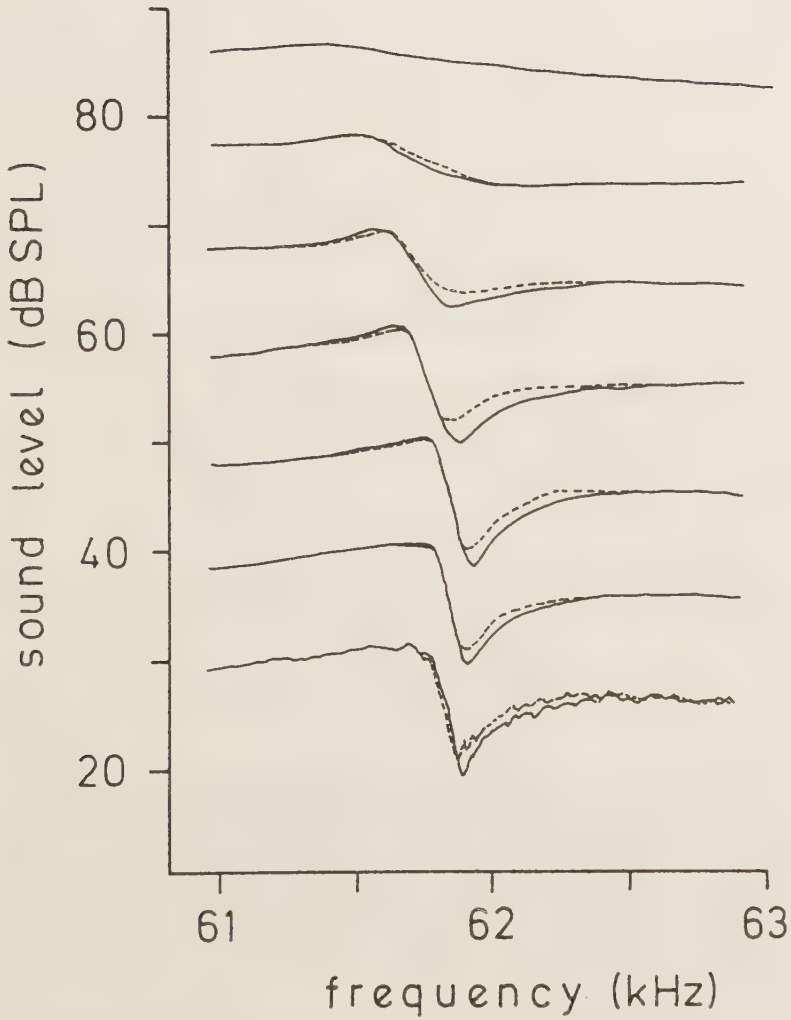


ABB.8 SEOAE-Interferenzfigur vor (durchgezogen) und während (gestrichelt) elektrischer Reizung im COCB.

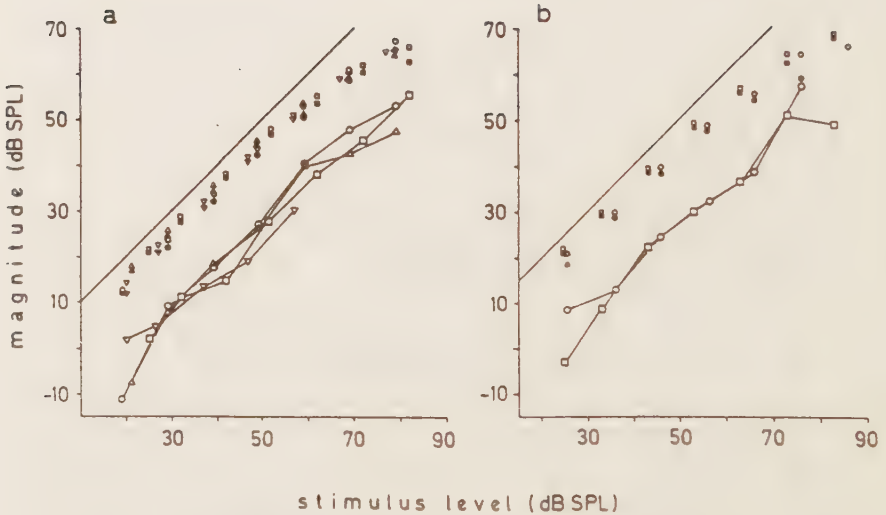


ABB.9 Größe des Effektes efferenter Reizung (durchgezogene Linien) in Relation zum Stimuluspegel (45° Gerade) und der Amplitude der SEOAE (solitäre Punkte: leere Symbole ohne, gefüllte Symbole mit efferenter Reizung; der Absolutpegel der Differenz zwischen den jeweiligen Punktpaaren ist unten als Größe des efferenten Effektes aufgetragen). Dargestellt sind die Differenzen für elektrische Reizung im COCB (a: 4 Meßreihen) und im DMPO (b: 2 Meßreihen). Der efferente Effekt liegt um ca. 24 dB unterhalb des Stimuluspegels und um etwa 17 dB unter der Emissionsamplitude.

5.3 Frequenzabbildung im Nucleus cochlearis

Der Nucleus cochlearis wurde physiologisch und anatomisch charakterisiert. In Teilgebiete des CN, in denen unterschiedliche Frequenzbereiche repräsentiert sind, wurde HRP injiziert um (1) die tonotope Frequenzverteilung in den einzelnen Unterkernen anatomisch lokalisieren zu können, und (2) durch den Transport des HRP zurück zur Cochlea eine Frequenzkarte der Cochlea zu erstellen. Zunächst werden die physiologischen Abstimmeigenschaften und dann das HRP-Projektionsmuster im CN besprochen.

5.3.1 Frequenzabstimmung von CN-Neuronen

Vor HRP-Injektion wurden die Bestfrequenzen und Abstimmungskurven des untersuchten CN-Gebiets genau erfaßt. Es wurde fast ausschließlich vom AVCN und PVCN abgeleitet, da von diesen beiden Unterkernen der beste HRP-Transport zur Cochlea zu erwarten war (Jones und Casseday 79). Darüberhinaus sind in diesen beiden Unterkernen inhibitorische Wechselwirkungen zwischen den Neuronen weniger stark ausgeprägt als im DCN (Evans and Nelson 73a,b, Voigt und Young 80). Deshalb dürften die Neurone Eigenschaften der Hörnervfasern und der Cochlea noch relativ unverfälscht widerspiegeln. Das zeitliche Antwortmuster der untersuchten Neurone war phasisch-tonisch (primary-like) oder phasisch (onset).

Um die Relation der BF einzelner Neurone zu RF und SEOAE-Frequenz zu bestimmen, wurden an einem Tier 151 Neurone abgeleitet (Abb.10). Die BF lagen zwischen 19 und 113 kHz (Bei insgesamt 14 untersuchten Tieren: 7.7-116 kHz), wobei ein großer Anteil der BF der Neurone (30 %) in einem schmalen Frequenzband zwischen 61 und 63 kHz (CF2) zu liegen kommt. Weitere Häufungen von neuronalen BF befinden sich zwischen 23 und 30 (FM1) und zwischen 90 und 97 kHz (CF3). Der untere Teil von Abb.10 zeigt, daß im CF2-Bereich die BF der meisten Neurone über der RF in Nähe der SEOAE-Fre-

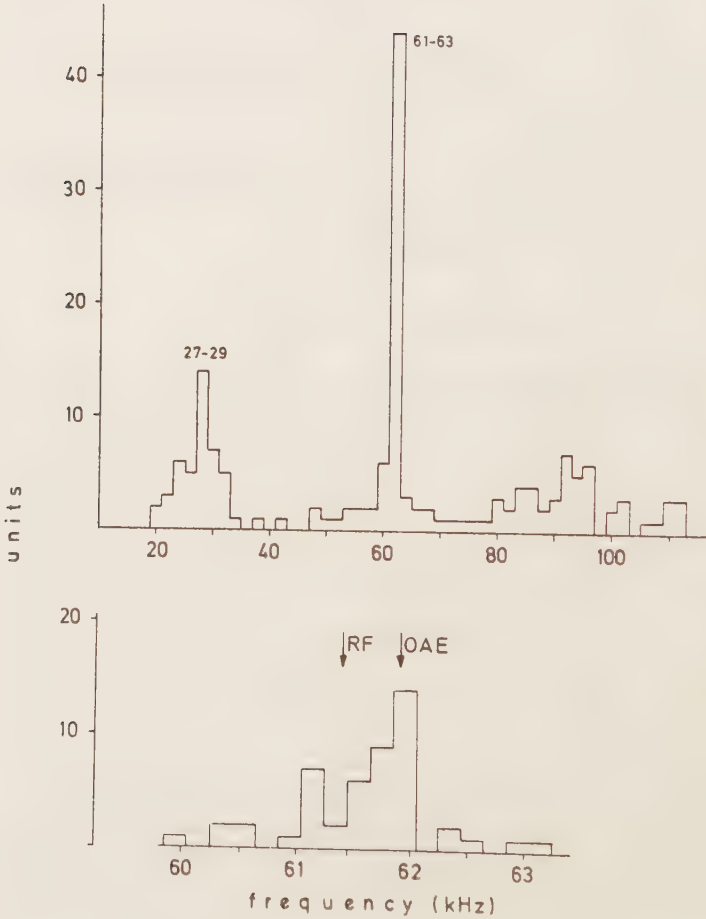


ABB.10 BF-Verteilungshistogramm von 151 an demselben Tier abgeleiteten Neuronen. Das Verteilungsmaximum liegt etwas oberhalb der RF nahe bei der Frequenz der SEOAE (unterer Teil der ABB.)

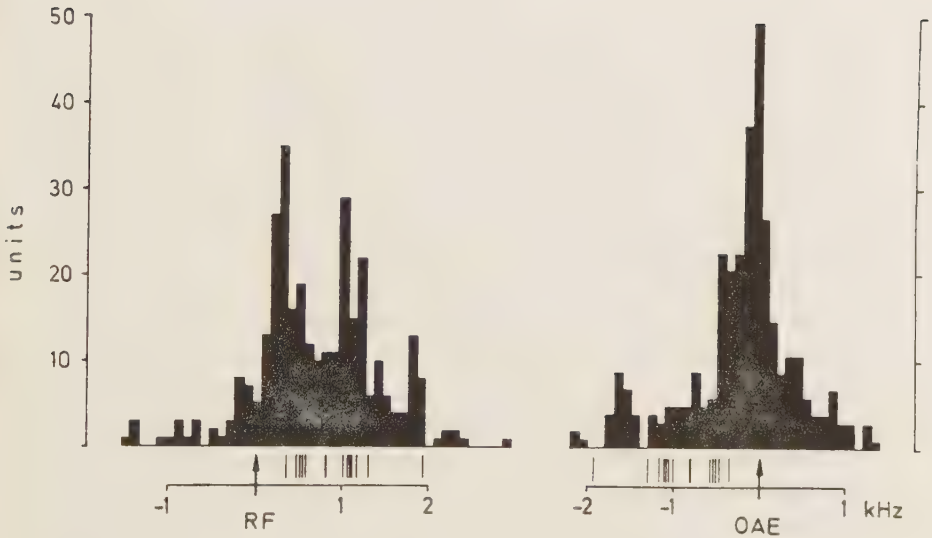


ABB.11 BF-Verteilungshistogram für 362 Neurone von 14 Tieren. Dieselben BF wurden auf die RF (links) und auf die SEOAE-Frequenz (rechts) normiert aufgetragen. Striche unterhalb der Histogramme kennzeichnen die Frequenzen der einzelnen SEOAE (links) und RF (rechts). Die SEOAE-Normierung ergibt eine bessere Anpassung. Verteilungsmaxima befinden sich 350 Hz über der RF und 50 Hz unter der SEOAE-Frequenz.

quenz liegen. Abb.11 zeigt die BF von 362 Neuronen von 14 Tieren im CF2 Bereich wahlweise normiert nach der RF (links) und der SEOAE-Frequenz (rechts). Die SEOAE-Normierung ergibt ein deutlich schärferes Maximum, was andeutet, daß die meisten BFs tatsächlich in einem festerem Bezug zur SEOAE-Frequenz stehen als zur RF. Der Hauptanteil der BF befindet sich je nach Normierung ca. 300 Hz über der RF und 50 Hz unter der SEOAE-Frequenz, die im Mittel 900 Hz überhalb der RF liegt.

Die empfindlichsten Neurone mit Schwellen um ca. 0 dB SPL finden sich bei ca. 62 kHz und bei tieferen Frequenzen (19 -25 kHz, 40 -50 kHz) (Abb.12 oben). Auffallend ist, daß in ca. 5 -7 kHz breiten Bändern unterhalb der relativ sensitiven Frequenzbereiche sowohl von 62 kHz (CF2) als auch von etwa 93 kHz (CF3), Neurone mit sehr hohen Schwellen gruppiert sind (siehe Abb.12 oben), die etwa 20-30 dB unempfindlicher sind. Auch für CF1 gilt möglicherweise dieser Zusammenhang, jedoch konnten nicht genügend Neurone überhalb 30 kHz abgeleitet werden, um dies klar darzustellen.

Die am feinsten abgestimmten Neurone mit Q10 dB Werten zwischen 50 und 340 liegen im Bereich von CF2 und CF3 (ABB.12 unten). Im Bereich der 1. Harmonischen um 30 kHz liegen die besten Q10 dB Werte bei 35 und sind damit nicht signifikant höher als bei anderen Frequenzen außerhalb von CF2 und CF3. Auffallend ist, daß die sehr scharf abgestimmten CF3-Neurone zwischen etwa 90.7 und 91.6 kHz nicht in den Bereich relativ hoher Sensitivität zwischen 93 und 97 kHz fallen (Vgl. Abb.12, oben mit unten), sondern an dessen tieffrequenter Flanke liegen. Auch für den CF2 Bereich zeigt Abb.13, daß die am schärfsten abgestimmten Neurone mit Q10 dB Werten über 250 zwischen 61.2 und 61.75 liegen (Maximum von 342 bei 61.65 kHz) und damit etwas unterhalb des Bereichs höchster Sensitivität (Schwellen niedriger als 4 dB SPL) zwischen 61.85 und 62.9 kHz (Abb.13 oben). Die BF der sensitivsten Neurone fallen zusammen mit der SEOAE-Frequenz (61.90 kHz) oder sind leicht höherfrequent, währenddessen die RF von etwa 61.4 kHz bereits an der tieffrequenten Flanke des von den BF umrissenen Hörschwellenminimums zu liegen kommt.

Die Abstimmkurven der untersuchten Neurone sind in der Regel entweder symmetrisch oder an der hochfrequenten Flanke steiler als an der tieffrequenten (ABB.14a). Neben diesem Grundtypus, der in allen untersuchten Säugern vorkommt, gibt es vor allem im RF-Bereich (CF2), aber auch oberhalb von 90 kHz (CF3) Neurone mit Aabstimmkurven, die sich fast spiegelbildlich verhalten und eine steile tieffrequente, gepaart mit einer flacheren hochfrequenten Flanke aufweisen. Dies wird besonders deutlich in ABB.14b, in der mit höherer Frequenzauflösung einige Abstimmkurven im Bereich der RF gezeigt sind. Symmetrische Abstimmkurven finden sich für BF zwischen ca. 61.0 und 61.8 kHz (RF = 61.4 kHz), hochfrequent flachere Abstimmkurven für BF zwischen ca 61.85 und 64 kHz, also etwa beginnend bei der SEOAE-Frequenz. Dabei überwiegen Neurone mit einer BF von etwa 61.9 kHz (=SEOAE-Frequenz), die an der Schwelle noch scharf abgestimmt sind (hohe Q10 dB Werte, siehe oben), deren Abstimmkurven sich dann aber bei höheren Intensitäten zu hohen Frequenzen hin aufweiten. ABB.15 zeigt exemplarisch für 6 andere Tiere symmetrische und hochfrequent flachere Abstimmkurven von Neuronen im Bereich von RF und SEOAE-Frequenz.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß im 60 kHz Bereich sowohl sehr empfindliche als auch sehr scharf abgestimmte Neurone vorliegen, daß jedoch die Neuronen mit maximaler Empfindlichkeit von denen maximaler Abstimmstärke unterschiedlich sind und geringfügig höhere BF nahe bei der SEOAE-Frequenz aufweisen. Dieser Zusammenhang läßt sich auch im 90 kHz Bereich finden. Darüberhinaus weisen Neurone mit einer BF an oder etwas überhalb der SEOAE-Frequenz Abstimmkurven auf, die durch eine flache hochfrequente und eine steile tieffrequente Flanke gekennzeichnet sind.

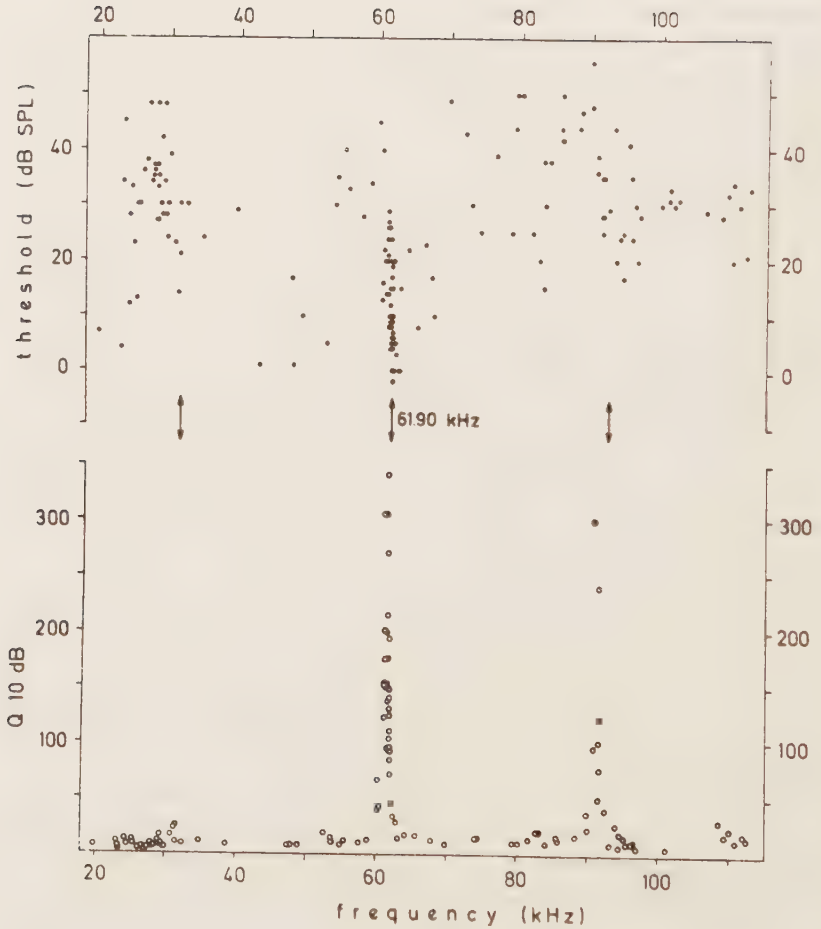


ABB.12 Beziehung zwischen BF und Schwellenempfindlichkeit (oben: gefüllte Kreise) bzw. Q10dB-Wert (unten: leere Kreise) für den Gesamtfrequenzbereich.

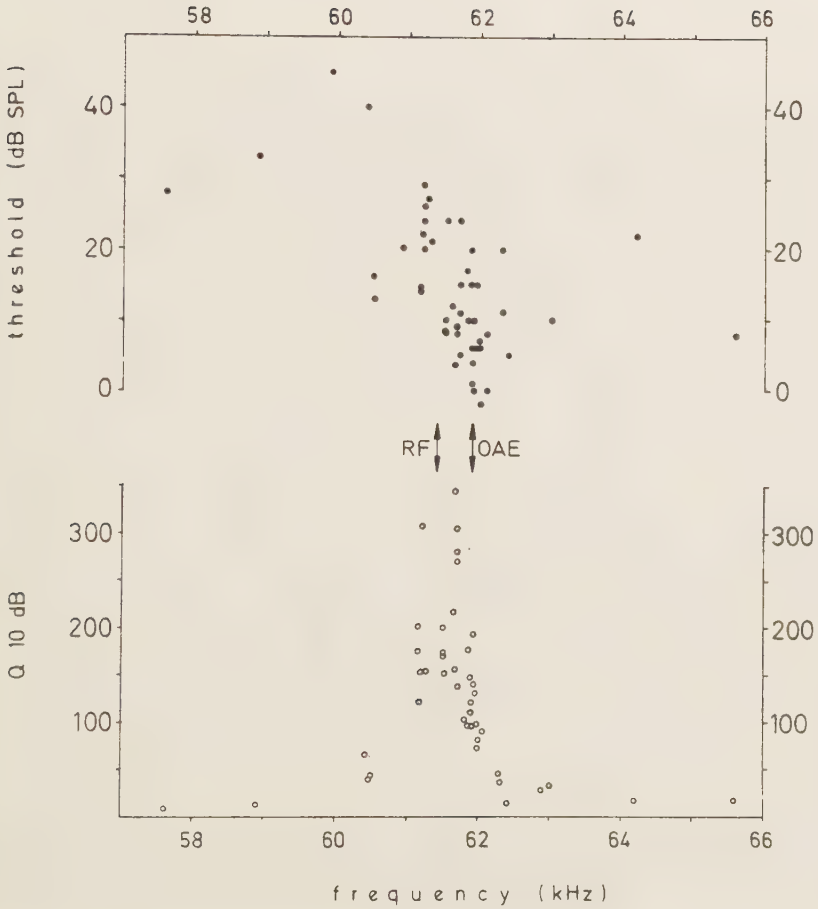


ABB.13 Schwellenempfindlichkeit (oben) und Q10dB-Werte (unten) in CF2-Bereich. Die sensitivsten Neurone liegen in ihrer BF an oder oberhalb der SEOAE-Frequenz. Die BF der am schärfsten abgestimmten Neurone liegt zwischen RF und SEOAE-Frequenz.

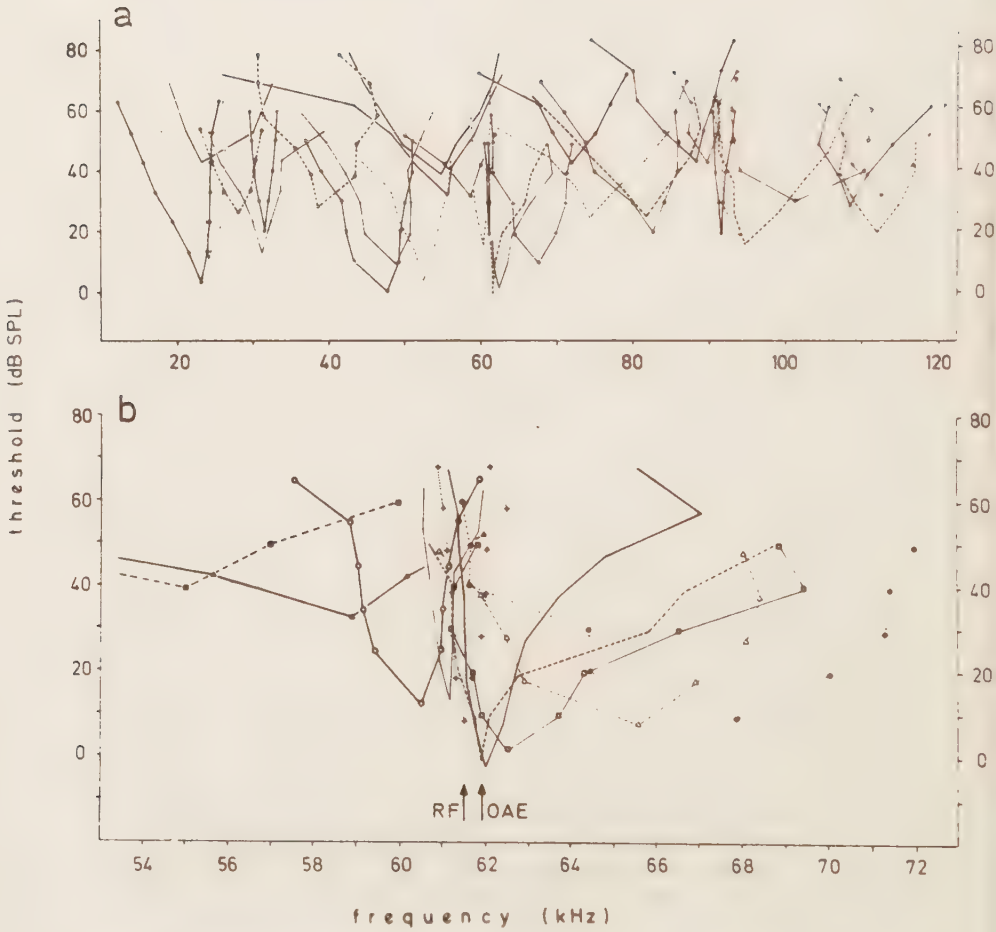


ABB.14 Abstimmkurven von einzelnen Neuronen für den Gesamt-frequenzbereich (a) und gespreizt dargestellt für den CF2-Bereich (b). Die Abstimmkurven von Neuronen mit einer BF an oder etwas oberhalb der SEOAE-Frequenz haben steile niederfrequente und flache hochfrequente Flanken.

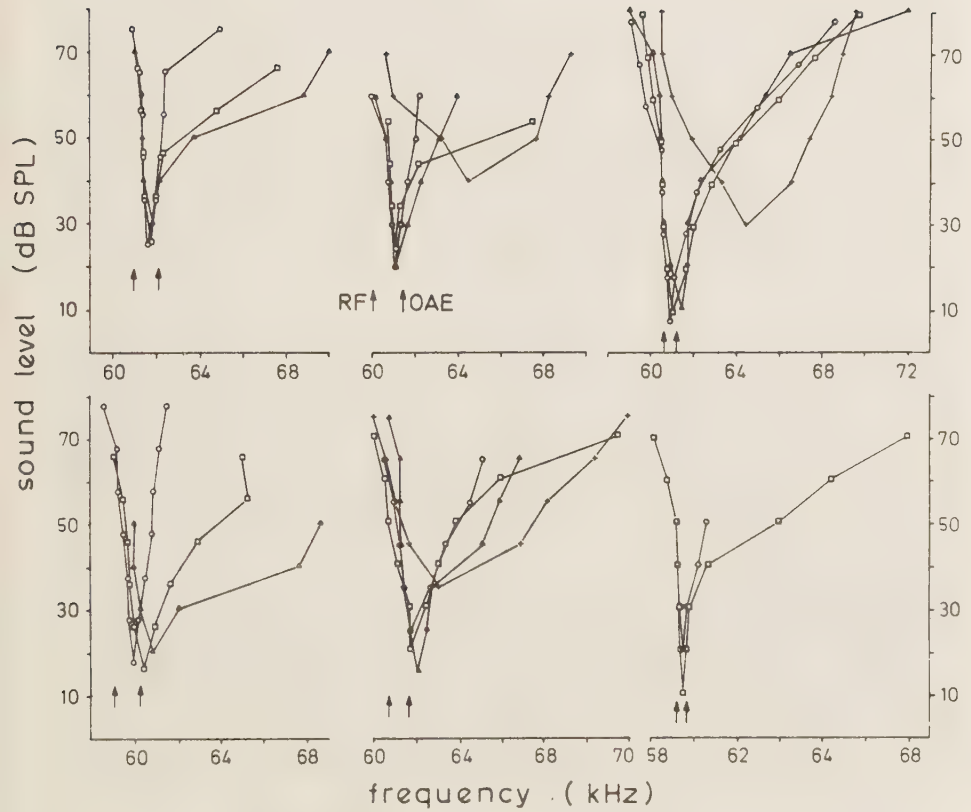


Abb.15 Symmetrische und hochfrequent flachere Abstimmkurven im CF2-Bereich von 6 verschiedenen Fledermäusen.

5.3.2 Meerrettichperoxidase Projektionsmuster im Nucleus cochlearis

Der CN-Komplex von Pteronotus ist dadurch ausgezeichnet, daß der AV etwa 50% des gesamten Kerngebietes einnimmt (Zook und Casseday 82). Außerdem liegt medial zum AV und PV eine Gruppe von großen multipolaren Zellen, die "marginal cells" (ma). Eine weitere Population dieser Zellen ist nach laterocaudal verschoben und befindet sich zwischen DCN und PV. Entsprechend ihrer Lage werden diese Zellgebiete im folgenden als mediale und laterale ma-Zellen (mam und mal) angesprochen (siehe Abb.16).

Insgesamt wurden 14 Injektionen von HRP und 1 Injektion von HRP-WGA in physiologisch charakterisierte Regionen von AV, ma und PV gesetzt (TAB.1). ABB.17 zeigt 4 Injektionsorte in AV und PV mit den zugehörigen BF von Neuronen, die während der jeweiligen Penetration gemessen wurden. Im AV sind zunehmende Tonfrequenzen von rostral nach caudal, im PV von dorsal nach ventral tonotop abgebildet, so daß die von caudodorsal nach rostroventral vordringende Elektrode in beiden Unterkernen mit zunehmender Tiefe abnehmende BF erfassen konnte.

Die Hörnervaxone gabeln sich in einen aufsteigenden, den AV versorgenden Ast und einen absteigenden Ast, der PV und DCN versorgt. HRP wird retro- bzw. anterograd in beiden Ästen transportiert. Aus diesem Grund war es möglich, nach Injektion in einen Unterkern auch für die anderen Unterkerne die Terminalfelder der Hörnervaxone und damit die tonotope Organisation zu bestimmen. In Abb.18 sieht man im Detail, wie markierte Hörnervaxone ausgehend von einem AV-Injektionsort nach ventral zur Hörnervgabelung ziehen und dort entsprechende, absteigende Axonäste abzweigen in Richtung PV.

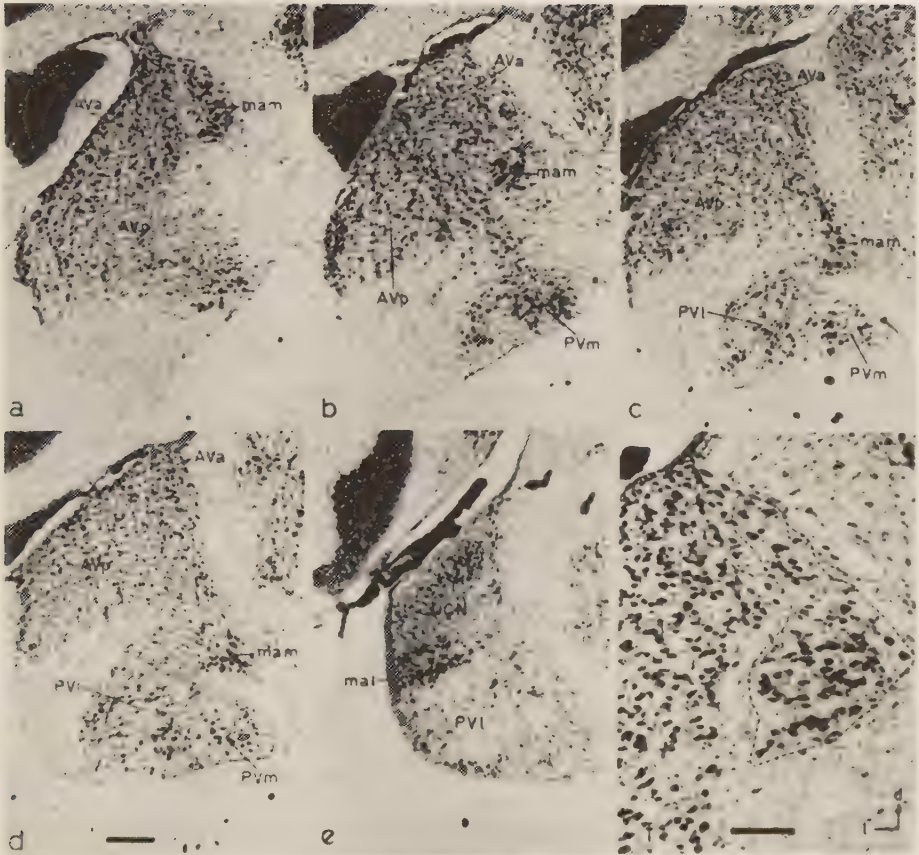


ABB.16 Cytoarchitektur des Nucleus cochlearis (transversale Schnittserie; Gallyas-Zellkörperfärbung; Schnittdicke 42 μ m; Schnitte geordnet von caudal nach rostral; Inset (f) zeigt vergrößerten Ausschnitt mit der mam-Region; (Balken a-g = 200 μ m; Balken f = 50 μ m).

Tabelle 1: HRP-Injektionsdaten

Tier	R ^F (kHz)	OAE (kHz)	Injektionsort		Terminalien im CN				markierte CN-Zellen (ANZAHL)				Anzahl markierter Spiralganglion- zellen	
			BF (kHz)	Unter- kern	Durch- messer (μ m)	AV	PV	DCN	ma	AV	PV	DCN		ma
1	603	6110	23	AV	100	++	+	++	+++			++ (5)	++ (3)	25
11	614	6220	46/606	AV	200/190	+++	+++	+++	-	-	-	+++ (30/41)	-	117 / 103
4	593	5969	59.6	AV	70	++	++	++	-	-	-	++ (3)	-	7
5	617	62.15	61.8	AV(†ma)	170	+++	+++	++	++	-	-	-	++ (11)	79
6	60.6	61.55	66	AV(†ma)	130	++	++	++	++	-	-	++ (7)	-	36
10	60.8	61.23	70	AV	150	++	++	+	-	-	-	-	-	38
		61.25	85	AV	130	+	+++	++	-	-	+	++ (10)	++ (1)	50
7	59.1	6027	74	AV	120	++	++	++	-	-	-	+++ (15)	++ (1)	33
8	61.6	62.11	91	AV	170	+++	+++	+	-	-	-	+++ (21)	-	39
3	60.0	61.15	54.5	PV	120	+++	+++	++	-	-	-	+++ (15)	-	78
9	61.0	6143	111	PV/ma	150	+++	++	++	+	-	-	++ (1)	-	22
2	60.5	6110	29.3	ma	90	+	-	+++	++	-	-	++ (5)	++ (1)	4
12	61.5	6191	31.5	ma	100	HRP-WGA wurde nicht transportiert								
13	61.6	6226	29/ ^{61.4} / ₋₆₄	ma/AV	150	+++	++	++	+++	-	-	++ (6/8)	-	31 / 17

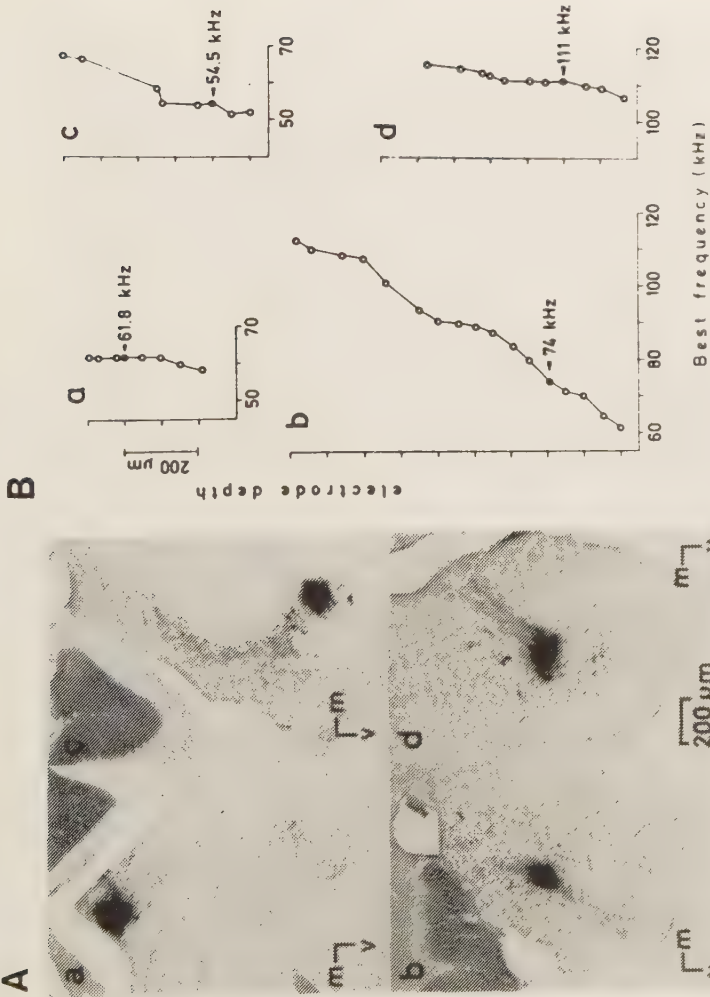


ABB.17 (A) HRP-Injektionsorte im CN (transversal geschnitten; mit DAB reagiert); (B) BF gemessen während der HRP-Elektrodenpenetration; Pfeile geben den Ort der Elektroden-
spitze während der HRP-Injektion an; (a,b) Injektionen in 61.8 und 74 kHz verarbeitende AV-Regionen; (c,d) Injektionen in 54.5 und 111 kHz verarbeitende PV-Regionen.



ABB.18 Bifurkation markierter Hörnervfasern
(Balken =100 μ m).

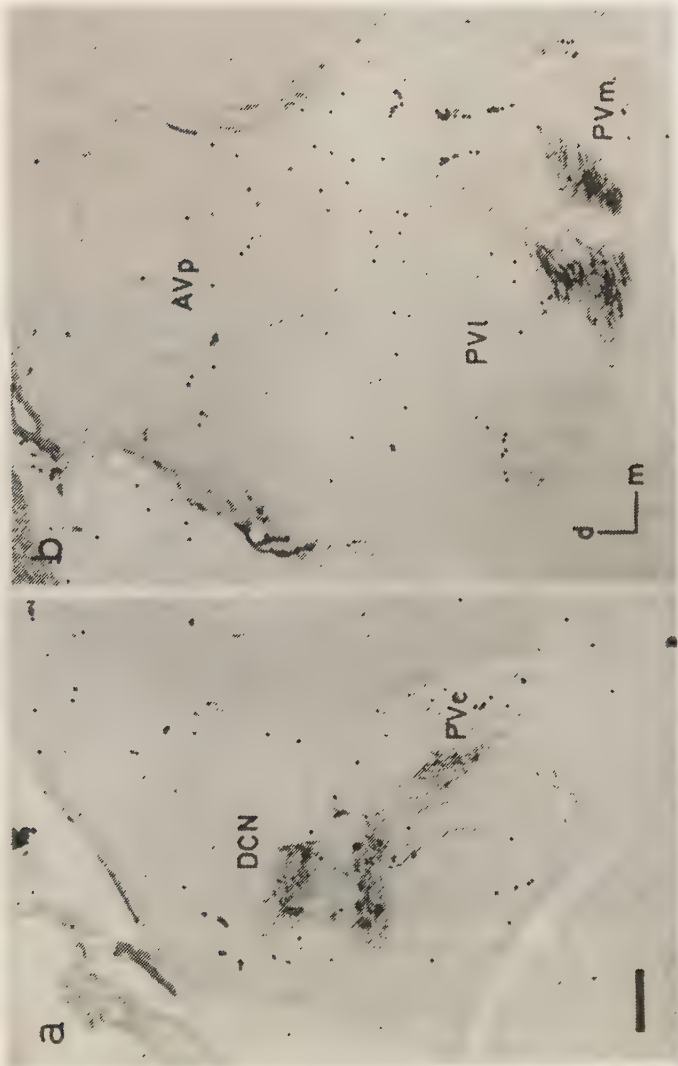


ABB.19 Gebiete mit markierten Terminalien in DCN (a) und PV (b) nach einer Doppelinjektion in 46 und 60.6 kHz verarbeitende Regionen des AV; zusätzlich sind im DCN Zellkörper retrograd markiert (Balken = 100 μm).

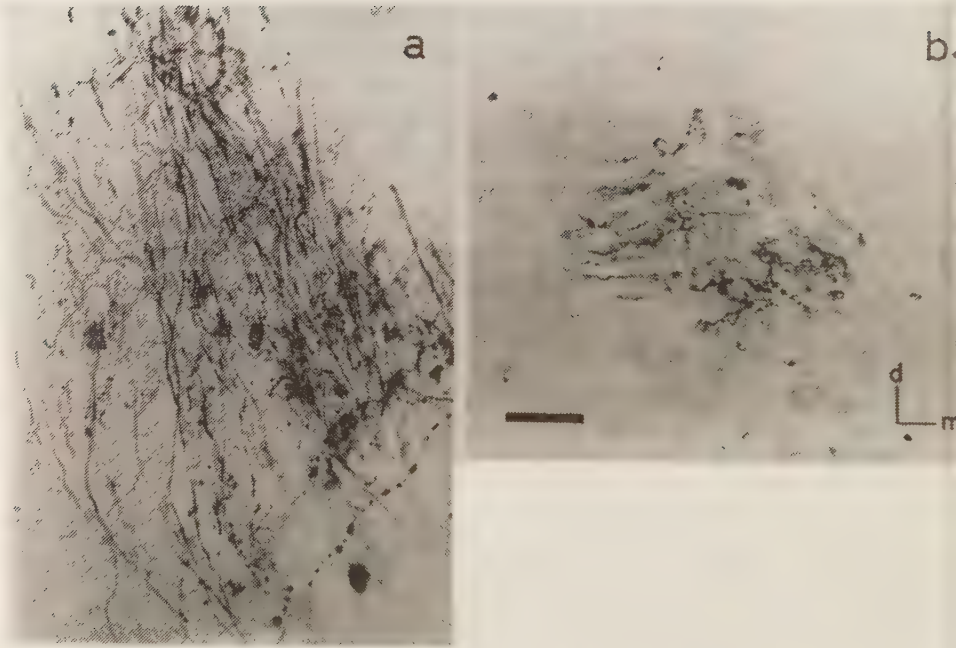


ABB.20 (a) Markierte Terminalien im AV nach einer Injektion in ein PV-Gebiet in welchem 54.5 kHz repräsentiert war; (b) markierte Terminalien in der Octopus-Region des PV (PVc) nach einer AV-Injektion in ein 85 kHz Gebiet (Balken = 100 μ m).

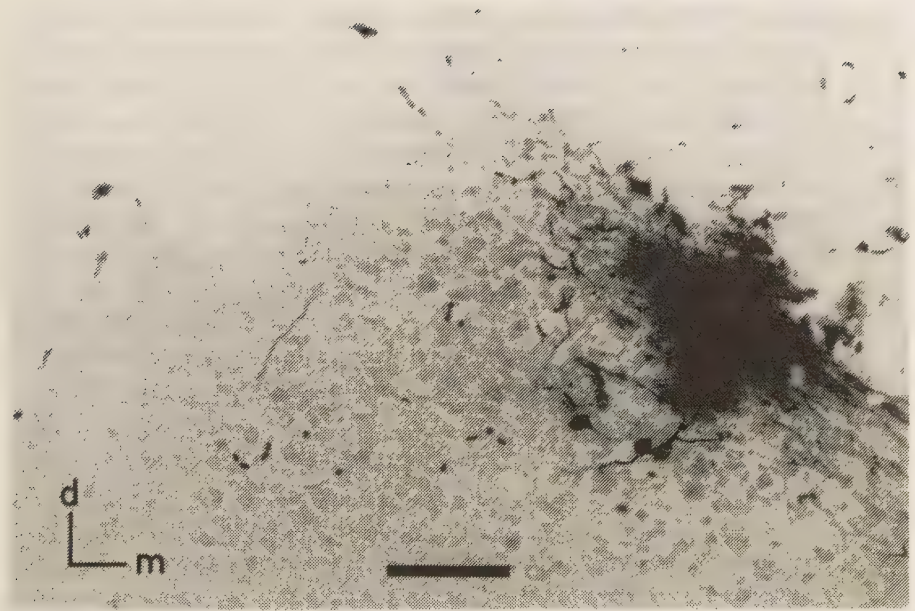


ABB.21 Injektionsort für 29.3 kHz, im medialen ma-Gebiet gelegen (Balken =100 μ m).

Beispiel-Injektionen für den Bereich 46-70 kHz (FM2 / CF2)

Nach einer Doppelinjektion in eine 46 kHz und eine 60.6 kHz verarbeitende Region des AV, die in etwa den FM2 und beginnenden CF2 Bereich umreißt, sind deutlich 2 distinkte Terminalfelder im PV (im medialen (PVM) und im lateralen (PVL) Teilgebiet) zu finden (ABB.19b, 22). Auch im DCN sind beide Projektionen deutlich getrennt (Abb.19a), wobei hier zusätzlich zu den synaptischen Endstrukturen im gleichen Gebiet auch retrograd gefüllte Neurone vorliegen, die zum Injektionsort projizieren.

Nach der Injektion in die 54.5 kHz Region des PV sieht man umgekehrt die aufsteigenden Hörnervaxone im AV mit den entsprechenden Axonendigungen ("endbulbs of held") (ABB.20a). Der Projektionsbereich im AV ist eng beschränkt auf einen dorsoventral ausgedehnten Bereich von ca. 130 um rostrocaudaler Ausdehnung (ABB.20a, 23). Die markierten Terminalien reichen nur bis zur Grenze AV/mam. Die mam-Gruppe ist deutlich ausgespart (Abb.23) und stellt deshalb möglicherweise eine vom AV deutlich distinkte Zellpopulation dar. Wiederum lassen sich retrograd gefärbte Neurone innerhalb des Terminalienfeldes markierter Hörnervfasern im DCN ausmachen. Im PV liegt das weit nach caudal reichende Terminalienfeld im Grenzgebiet zwischen PVL und PVM.

Beispiel-Injektionen für den Bereich hoher Frequenzen über 70 kHz (FM3 / CF3 / FM4)

Ausgehend von einer großen Injektion in eine 91 kHz Region (CF3) im caudalen AV (ABB.24) sieht man Axonendigungen in DCN (mit markierten Zellen) und PV, wobei hier vor allem der caudale PV (PVC) (Abb.20b) und die mal-Gruppe markiert sind. Auch bei einem zweiten Fall (85 kHz AV-Injektion) reicht das PV-Terminalgebiet deutlich in die mal Gruppe hinein, so daß diese funktionell zum PV gerechnet werden kann.

Das obere Ende des Hörbereichs von Pteronotus ist mit einer Injektion in ein Neuronengebiet mit BF von 111 kHz (FM4) getroffen worden (Abb.25) Der Injektionsort liegt an der Grenze zwischen dorsalem PV und mam. Im AV ist ein relativ deutliches Terminalgebiet auszumachen. Im PV und

beiden ma-Regionen sind nur wenige Fasern und Terminalien in der Nähe des Injektionsortes markiert. Im DCN befindet sich eine sehr dorsal gelegene Terminalienzone. Da sich die Abbildungsgebiete für hohe Frequenzen sehr caudal im AV und sehr dorsal im PV befinden, liegen sie beide in enger Nachbarschaft.

Beispiele für Injektionen in die tiefen Frequenzen unter 35 kHz (FM1 / CF1)

Eine Injektion in ein sehr tieffrequentes, auf 23 kHz antwortendes Gebiet im rostroventralen AV hatte nur schwache Markierungen im AV und PVm zum Ergebniss (Abb.26). Obwohl der Injektionsort deutlich außerhalb der ma Gruppe liegt, sind dennoch sehr ausgedehnte Markierungen innerhalb der mam Gruppe in ihrer gesamten rostrocaudalen Ausdehnung zu sehen. Auch das Grenzgebiet zwischen mal und ventralem DCN wird von markierten Fasern versorgt. Die ausgedehnte mam Markierung steht in deutlichem Gegensatz zu den üblicherweise eng rostrocaudal begrenzten AV-Markierungen.

Eine zweite Injektion in ein auf 29.3 kHz abgestimmtes Gebiet hatte als überraschendes Ergebnis, daß der Injektionsort nicht wie vermutet im rostralen AV, sondern relativ weit caudal in der mam Gruppe auszumachen war (Abb.21,27). Das Projektionsgebiet liegt ebenfalls vor allem entlang der rostrocaudalen Ausdehnung von mam und relativ breit gestreut im DCN. Im PV waren in diesem Falle keine Terminalien erkennbar. Eine weitere größere Injektion in die mam Gruppe (Abb.36, BF von 29.0 kHz), hatte jedoch deutlich PVm Terminalien angefärbt, so daß im Prinzip auch für die mam Gruppe eine normale Versorgung durch, in auf- und absteigenden Ast gegliederte, Hörnervaxone angenommen werden kann.

ABB.22 HRP-Projektionen im CN: CF2/FM2-Bereich; transversale Schnittserie, von caudal nach rostral geordnet; eckige Klammern geben Gesamtzahl der CN-Schnitte an; markierte Terminalien (Punkte), markierte Zellkörper (Quadrate), Injektionsort (ausgefüllte Fläche).

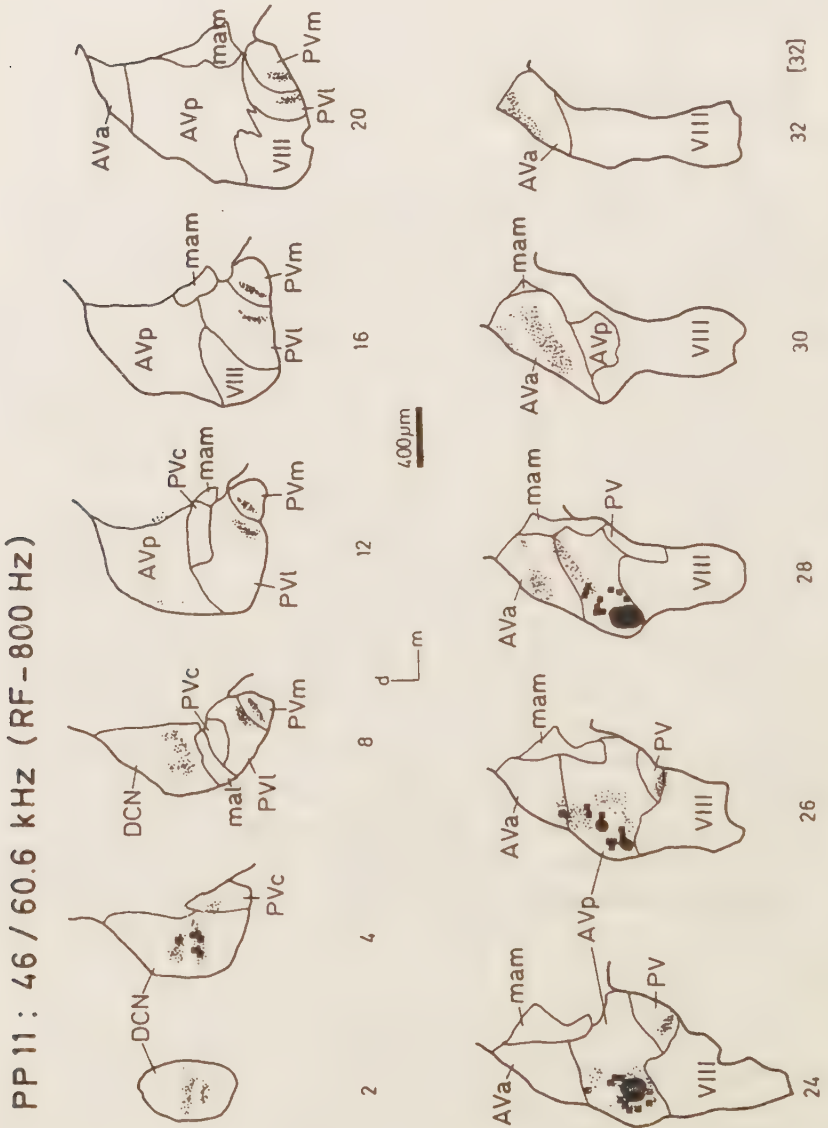


ABB.23 HRP-Projektionen im CN: FM2-Bereich

PP 3 : 54.5 kHz

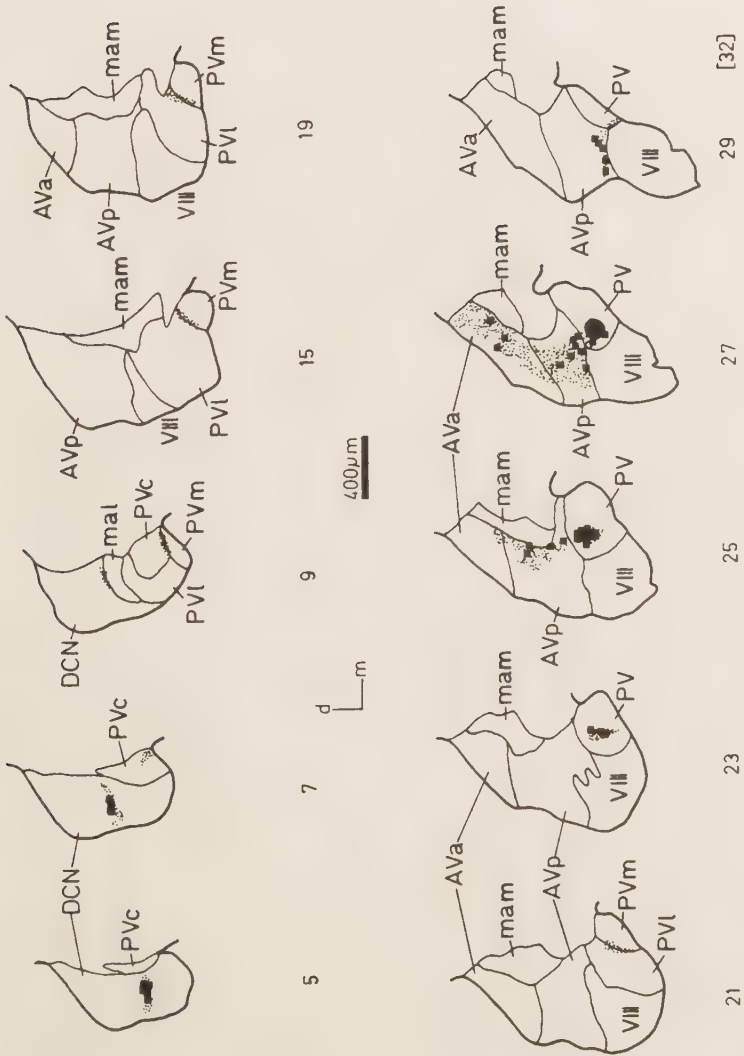


ABB.24 HRP-Projektionen im CN: CF3-Bereich

PP 8 : 91 kHz

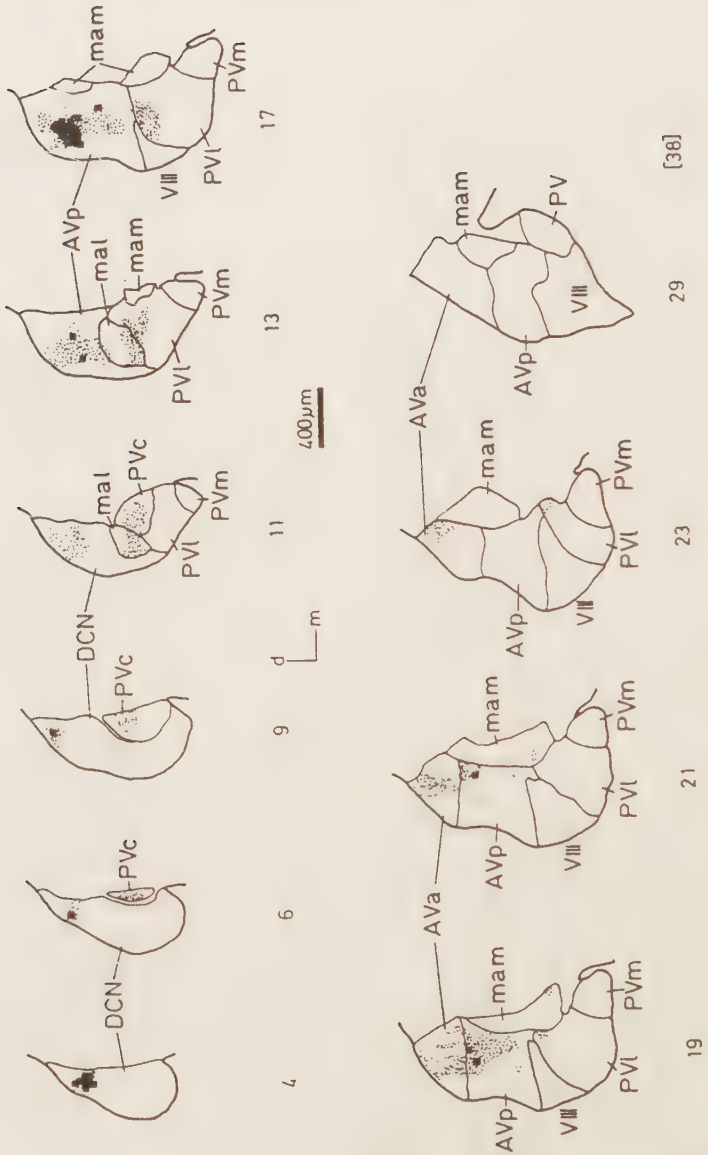


ABB.25 HRP-Projektionen im CN: FM4-Bereich

PP 9: 111 kHz

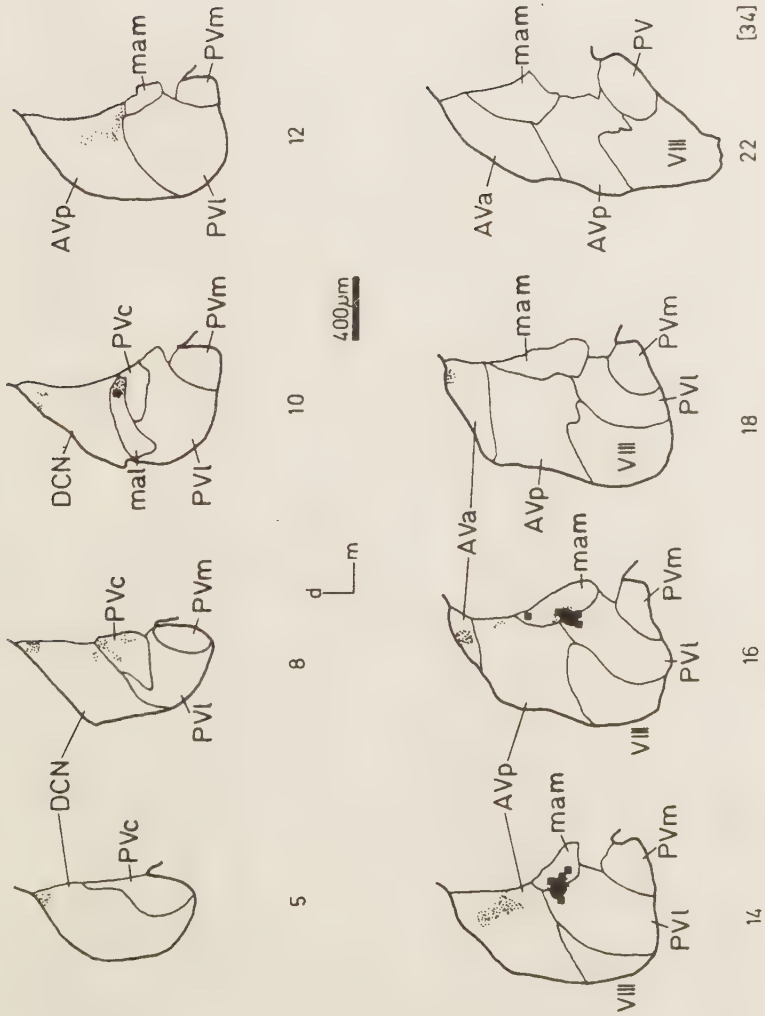
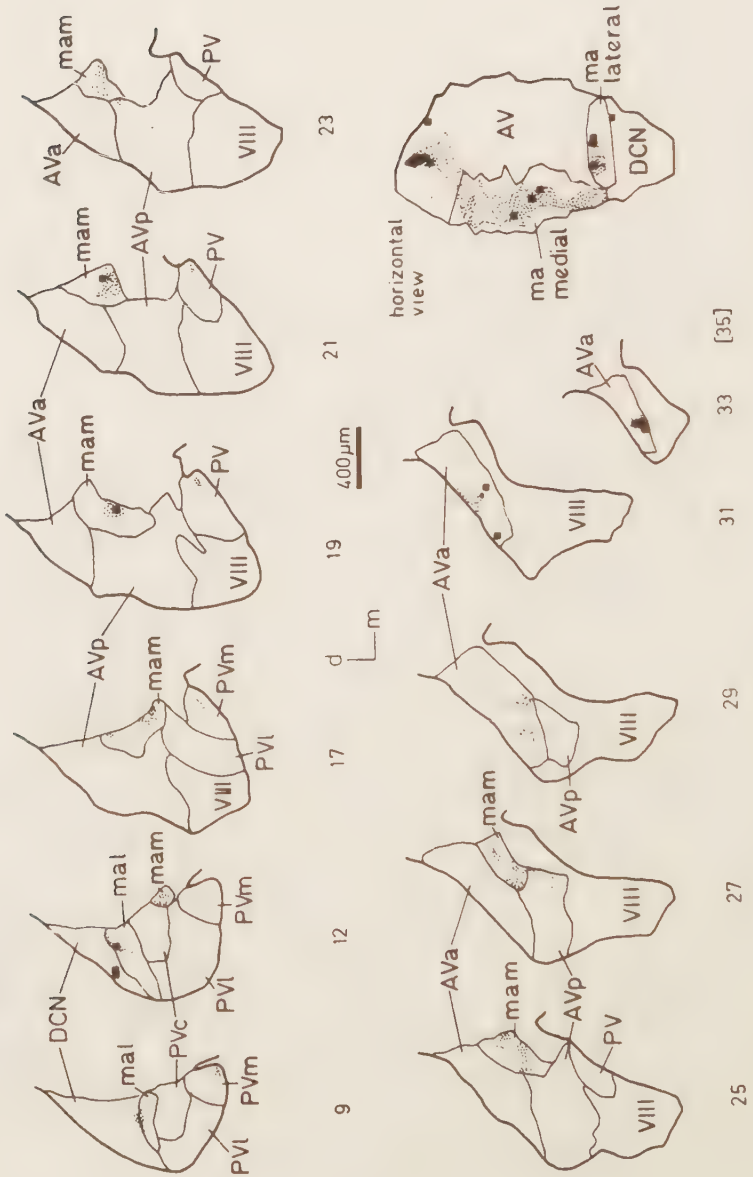


ABB.26 HRP-Projektionen im CN: FM1-Bereich

PP 1 : 23 kHz



Zusammenfassung der anatomischen Resultate

Um die Gesamtfrequenzrepräsentation im CN darzustellen, wurden aus den Transversalschnittserien sowohl sagittale als auch horizontale Rekonstruktionen angefertigt, unter Verwendung der 46/60.6 kHz Doppelinjektion und der 29.3 kHz mam-Injektion als Normschnittserien (Abb.28 oben). Dadurch können die Injektionsorte und Projektionsgebiete schematisch aus allen drei Blickebenen dargestellt werden (Abb.28 unten).

Der Bereich zwischen 54.5 und 66 kHz ist in allen drei Unterkernen stark expandiert (im AV auf 40% des Gesamtvolumens). Im AV ist auch der Bereich, den die 85 und die 91 kHz Bande einschließen, relativ groß (siehe Abb.28: Sagittal-Projektion), was auf eine mögliche Überrepräsentation dieses Frequenzbereiches deutet. Auffallend ist, daß im rostralen AV relativ wenig Raum für die Frequenzen unterhalb 46 kHz zur Verfügung steht. Die Injektionsorte der FM1/ CF1 Injektionen liegen in der mam Gruppe auf einer rostrocaudalen Position, an der im benachbarten AV sehr viel höhere Frequenzen zwischen 60 und 80 kHz verarbeitet werden. Im PV läßt sich der expandierte Frequenzbereich zwischen 54 und 66 kHz gut dem cytoarchitektonisch abgegrenzten, lateralen Teilgebiet (PVl) zuordnen. Tiefere Frequenzen sind relativ gedrängt im medialen PV (PVm) repräsentiert, höhere Frequenzen in dorsalen Bereichen des PVl, im caudalen PV (PVC) und in der mal-Gruppe. Auch im DCN ist der Bereich 54.5 kHz bis 66 kHz überrepräsentiert, der Repräsentationsbereich für tiefe Frequenzen (FM/CF1) reicht zum Teil in die dorsale mal-Gruppe hinein.

Sonderstellung der medialen ma Gruppe

Die anatomischen Resultate weisen darauf hin, daß innerhalb der mam Gruppe vorwiegend (möglicherweise auch ausschließlich) FM1/CF1 Frequenzen verarbeitet werden. Abb.29 zeigt eine Serie von Penetrationen, die von medio-dorsal nach lateroventral erfolgten und dabei die mam Gruppe

und Teile des AV durchdrangen. Tatsächlich liegen die BF's der dorsal als erste ableitbaren auditorischen Neurone unterhalb von 33 kHz, gleichzeitig sind starke evozierte Potentiale im Bereich zwischen 25 und 29 kHz zu messen. Erst einige 100 μ m tiefer erfolgt das für den AV charakteristische Frequenzgefälle von hohen nach tiefen Frequenzen. Die Frequenzumkehr zeigt, daß ein distinktes niederfrequentes Gebiet der tonotopen AV Region mediodorsal vorgelagert ist. Neurone in diesem vorgelagerten Gebiet lassen sich in zwei Gruppen unterteilen: (a) tonische oder phasisch-tonische units mit relativ niedriger Schwelle unterhalb von ca. 30 dB SPL und kleinen Aktionspotentialen (gestrichelte oder gepunktete Abstimmkurven in Abb.30a) (b) Rein phasische Onset-neurone mit großen Aktionspotentialen und breiterer Abstimmkurve (durchgezogen in Abb.30a) und höherer Schwelle (überhalb 30 dB SPL). Diese Neurone stellen den Hauptanteil dar und sind auf den FM1 Bereich (25-29 kHz) abgestimmt (siehe auch ABB.10).

Verdeutlicht wird die enge anatomische Nachbarschaft der niederfrequenten mam-Zellen mit den höherfrequenten Zellen des AV durch die in Abb.36 dargestellte Injektion in ein 29 kHz verarbeitendes Gebiet innerhalb der mam-Gruppe. Die Injektion war groß genug, um auch Teile des angrenzenden AV zu erfassen. Entsprechend sind in der Cochlea zwei weit voneinander entfernt liegende Bereiche markiert, ein apikaler Bereich, an dem mutmaßlich die 29 kHz repräsentiert sind, und ein Band markierter Zellen und Dendriten in der ersten Halbwindung basal zum zweiten Innervierungsmaximum. Die dort repräsentierte Frequenz dürfte dem Bereich von 61.4 bis 64 kHz entsprechen, der mit der HRP-Elektrode am Injektionsort als Hintergrundaktivität neben den 29 kHz BF einer Einzelzelle gemessen werden konnte.

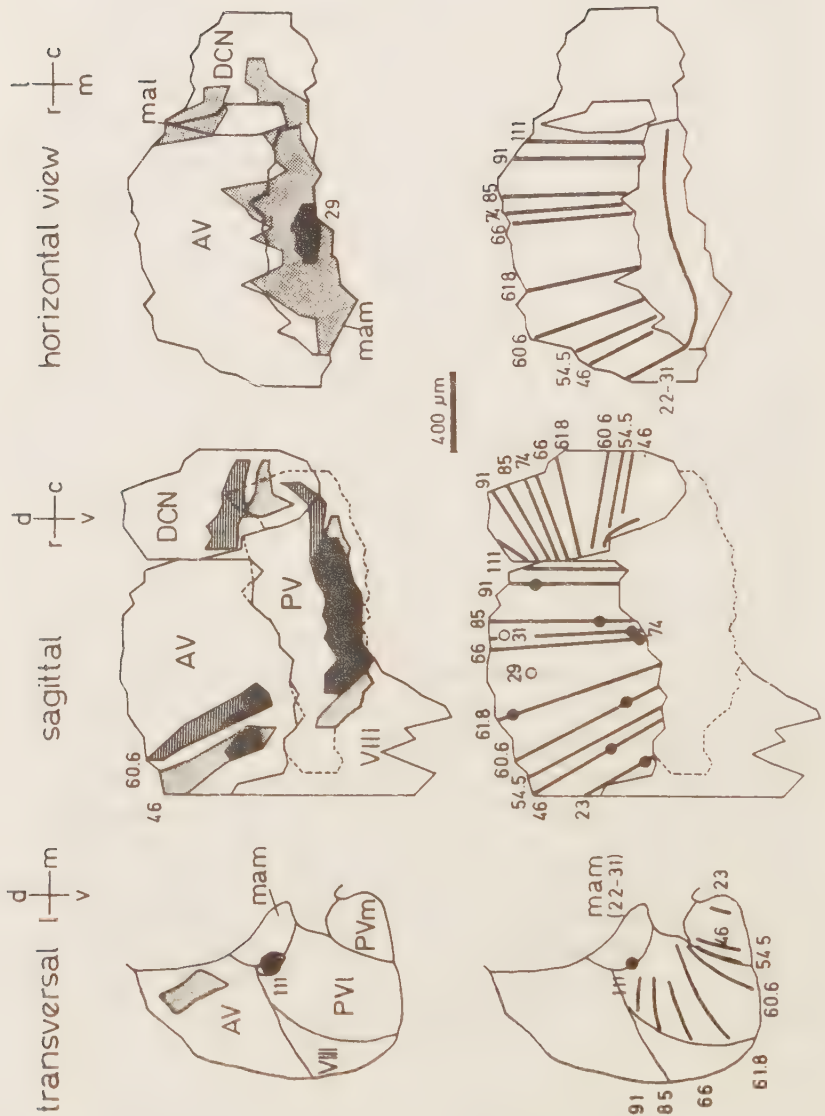


ABB.28 Frequenzverteilung im Nucleus cochlearis.
oben: Beispielinjektionen; unten: Gesamtfrequenzschema,
 Injektionsorte als ausgefüllte Kreise, Terminalienbänder als
 Striche; Erklärung siehe Text.

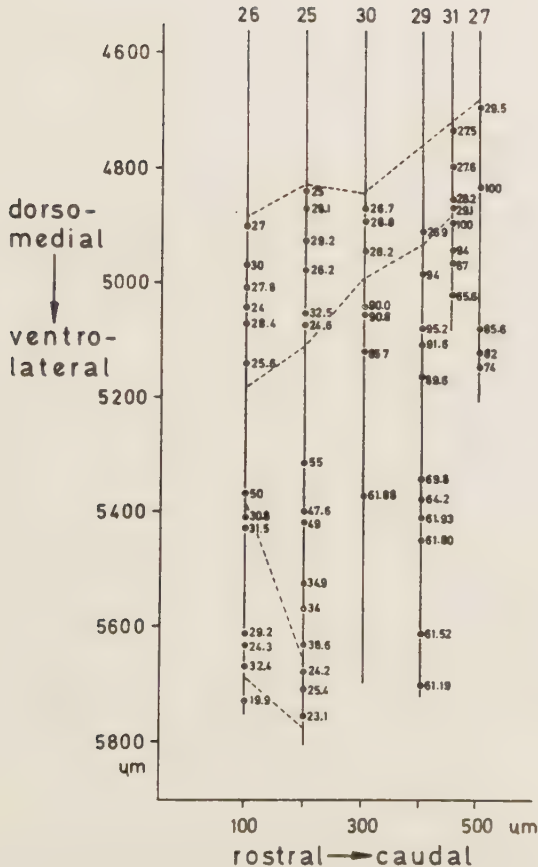


ABB.29 Elektrodenpenetrationen durch das mam-Gebiet und den daran angrenzenden AV (leere Kreise: BF von Einzelzellableitungen, gefüllte Kreise: BF von Vielfachableitungen); gestrichelt umrissen sind Frequenzbereiche unter 31 kHz; Beachte den abrupten Sprung von tiefen zu hohen Frequenzen im dorsomedialen Bereich des Ableitgebietes.

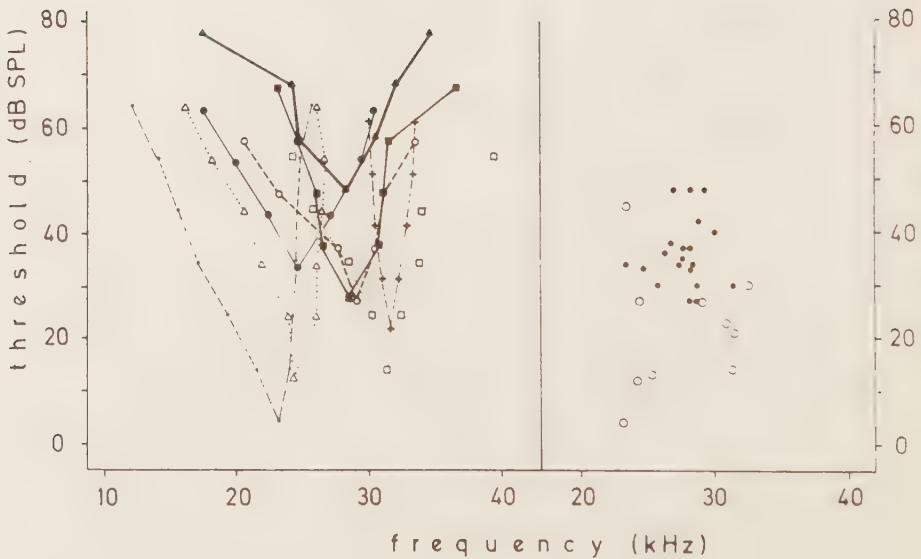


ABB.30 Abstimmkurven (a) und BF (b) von Neuronen, die dorsomedial zu dem normalen AV-Frequenzgefälle abgeleitet wurden. Beachte die relativ große Zahl phasischer Neurone mit onset-Charakter (gefüllte Kreise) im Vergleich zu den tonischen Neuronen (leere Kreise).

5.4. Cochleamorphologie

Die Cochlea von Pteronotus weist eine Reihe morphologischer Besonderheiten auf, die bereits von anderen Forschern beschrieben wurden (Henson 70, Henson 73, Henson et al 77, Henson 78, Pye 80). Zusätzlich zu diesen deskriptiven Daten soll hier deren absolute Position in Bezug auf die Basilarmembranlänge bestimmt werden, um einen Vergleich mit der Frequenzkarte zu ermöglichen.

Die Cochlea besitzt 5 Halbwindungen (siehe horizontale Projektion in ABB.32b). Die durchschnittliche Länge der BM beträgt 14.33 mm (11 Cochleae, 8.4% Standardabweichung). Das auffälligste Merkmal der Cochlea ist die beträchtlich vergrößerte Basalwindung (Abb.31,32), die etwa zwei Drittel der Cochleagesamtlänge (10 mm) einnimmt. Wie aus Abb.32b deutlich wird, existieren starke Veränderungen der Skalenvolumina innerhalb der Basalwindung: Die Skala vestibuli formt zwei separate Kammern, die durch eine knochige Vorstülpung der inneren Wand voneinander getrennt sind. Die dadurch erzeugte Engstelle ist etwa 250 µm breit und befindet sich an einer gut definierten Position in durchschnittlich 3.2 mm Abstand zum basalen BM-Ende (d.h in 11.12 mm Entfernung zum Apex). Das Volumen der ersten, basaler gelegenen Kammer ist kleiner als das der zweiten apikaleren Kammer, die sich in der zweiten Halbwindung stark ausweitet. Das Volumen der Skala tympani ändert sich nicht so drastisch und erreicht seine größte Ausdehnung gerade unterhalb des engsten Punktes der Skala vestibuli. Hier liegen auch das runde Fenster und der Aquäduktus cochlearis, beide deutlich größer als in anderen Säugern (Henson 70).

Die Wand der Skala tympani ist bedeckt von einer dichten, dunkel färbenden Schicht, die "thick lining" genannt wird (Pye 80, Jenkins et al. 83, Abb.31: Pfeile). Diese Schicht kleidet die gesamte erste Halbwindung aus und bricht innerhalb der zweiten Halbwindung abrupt ab (ihre Dicke nimmt von 15 µm auf 3 µm innerhalb von 80 µm Basilarmembranlänge ab). Dadurch wird eine scharfe Grenzlinie in etwa 8.72 mm Entfernung zum Apex geformt, die ungefähr im Zentrum der zweiten stark vergrößerten Kammer der Skala

vestibuli liegt (siehe Abb.32b: TL).

Auch die Basilarmembran weist Besonderheiten auf. Nach Henson (78) kann ein kurzer Abschnitt gerader, nicht radial gekrümmter BM im Übergangsgebiet zwischen erster und zweiter Halbwindung abgegrenzt werden, d.h. in der Cochlearegion, in der das "thick lining" endet und Stria vascularis und Spiralligament lokal vergrößert sind (Abb.32a: Stern). Die der Skala tympani zugewandte Seite der BM zeigt Verdickungen in Form der Pars tecta unter den inneren Pfeilerzellen und der Pars pectinata unter den äußeren Haarzellen (Abb.33: PT, PP). Im Bereich maximaler Dicke (zwischen der Skalenverengung und dem "thick lining" Abbruch, siehe unten) besteht die pars pectinata nicht nur aus dem tympanalem Anteil, sondern weist zusätzlich einen vestibulären, in Richtung der Skala media und Skala vestibuli sich ausdehnenden, Anteil auf. Anhand von Paraffin-Schnittserien durch 3 Cochleae vorgenommenen Dickenmessungen an der Pars pectinata zeigen, daß die BM-Dicke innerhalb der basalsten 2 mm geringer ist als in apikalereichen Bereichen der ersten Halbwindung (Minimalwert von 7 μ m). Nahe der Verengung der Skala vestibuli erreicht die BM-Dicke ein Maximum von etwa 23 μ m. Weiter apikal nimmt die BM-Dicke wieder ab mit der größten Steigung am Abbruchpunkt des "thick lining". Apikal zu diesem Punkt nimmt die Dicke nur noch langsam ab (von 12 auf 8 μ m innerhalb 6.5 mm Basilarmembranlänge). Innerhalb der apikalsten 2 mm fällt die Dicke wieder steiler ab.

Die Innervation des Corti-Organ zeigt 2 distinkte Maxima, die in Cochleapräparaten rein qualitativ erkennbar sind anhand der hohen Dichte der von den afferenten Dendriten der Spiralganglionzellen geformten Faserbündel (Abb.32a,35). Das erste Dichtemaximum liegt innerhalb der basalsten 2 mm, das zweite Maximum liegt im Zentrum des zweiten Halbwindung direkt apikal zum TL-Abbruch und der geraden BM-Region. Ein langer nur spärlich innervierter BM-Streifen (ca. 3.2 mm lang) trennt diese beiden Gebiete. Das Spiralganglion der apikalen 3 Halbwindungen begleitet die BM nicht als distinktes Band, sondern formt eine geschlossene große Zellmasse, die tief versenkt im inneren auditorischen Meatus liegt.

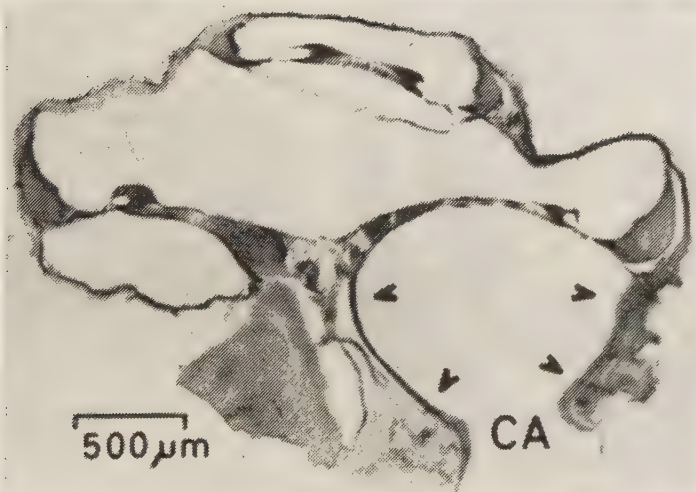


ABB.31 Transversalschnitt durch die Cochlea; die Basalwindung ist stark vergrößert; die Skala tympani der ersten Halbwindung und der große Aquäduktus cochlearis (CA) werden von einer Belagschicht = "thick lining" ausgekleidet.

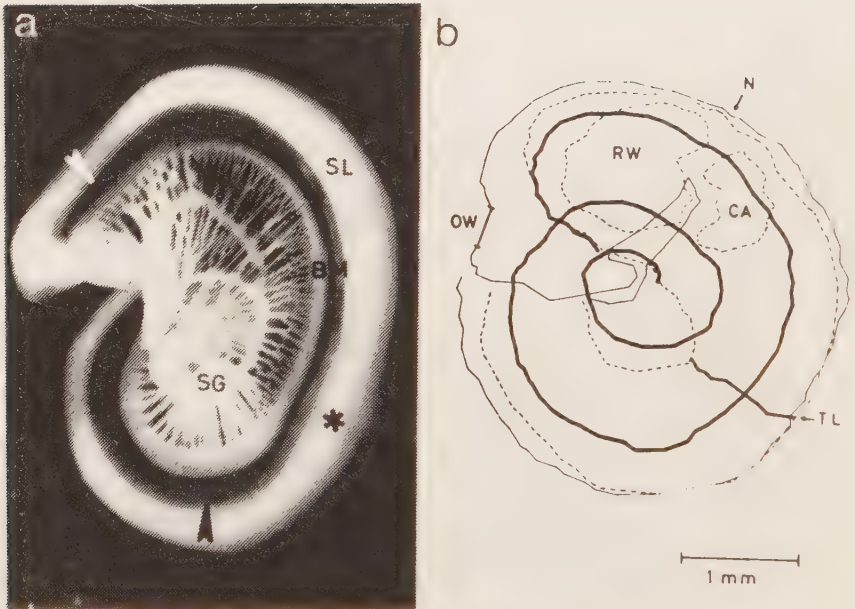


ABB.32 (a) Horizontalansicht der Basalwindung der Cochlea nach Entfernung der Knochenkapsel; basalster Bereich liegt oben links; Spiralligament (SL), Basilarmembran (BM), Spiralganglion (SG); die afferenten Dendriten der SG-Zellen ziehen in distinkten Faserbündeln zur BM; Beachte die zwei Innervierungsmaxima an der Cochleabasis (weißer Pfeil) und im Zentrum der zweiten Halbwindung (schwarzer Pfeil); das Spiralligament ist lokal vergrößert (Sternchen) entlang eines Abschnittes radial kaum gekrümmter BM.

(b) Horizontalprojektion einer Cochlea; die BM (dicke Linie) ist für alle Windungen gezeigt; nur für die Basalwindung sind dargestellt: Skala vestibuli (mit dünnen durchgezogenen Linien umrissen) und Skala tympani (umrissen mit gestrichelten Linien); ovales Fenster (OW), rundes Fenster (RW), Aquädukt cochlearis (CA); In der ersten Halbwindung kommt es zu einer scharfen Verengung der Skala vestibuli (N) und zu Beginn der zweiten Halbwindung bricht das "thick lining" an einer distinkten Grenzlinie (TL) ab.

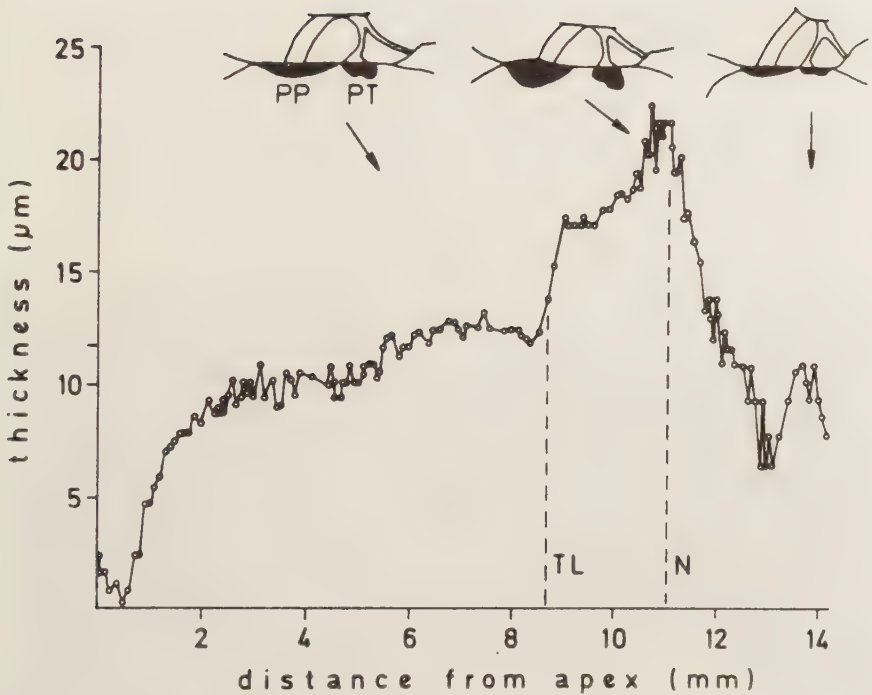


ABB.33 Änderung der BM-Dicke entlang der Cochleallänge. Der obere Teil der Abb. zeigt halbschematische Zeichnungen von Radialschnitten durch das Corti-Organ (schwarz: pars pectinata (PP) und pars tecta (PT) der BM); unten ist die Dicke der PP gegen eine normierte BM-Länge von 14.33 mm aufgetragen. Beachte den basalsten Bereich geringer Dicke in etwa 13 mm Entfernung zum Apex und das Dickenmaximum bei 10.8 mm nahe der Skala vestibuli Engstelle (N); weiter apikal kommt es wieder zu einer Dickenabnahme die an der Abbruchstelle des "thick lining" (TL) am stärksten ist.

5.5 Frequenzabbildung in der Cochlea

Nach HRP-Injektionen in Gebiete des CN, die spezifische Frequenzen verarbeiten, wurden in der Cochlea retrograd markierte Spiralganglionzellen gefunden. Die Anzahl der markierten Spiralganglionzellen war korreliert mit der Größe und Dichte des Injektionsortes (siehe TAB.1). Die markierten Zellen waren bipolar (Abb.34a) und in Form und Größe ähnlich den Typ 1 Ganglionzellen (Liberman 82, Vater et al. 85), deren afferente Dendriten die IHC innervieren (Spoendlin 1973). In den meisten Fällen konnten die markierten afferenten Dendriten bis zur Habenula, in einigen Cochleae bis zu den Synapsen unter den IHC verfolgt werden (Abb.34b).

Die Lage der markierten Ganglionzellen war abhängig von der BF der Neurone am Injektionsort im CN. Die markierten Zellen waren im allgemeinen in einem eng beschränkten Gebiet des Spiralganglions lokalisiert und ihre Hauptprojektionen zur BM waren deutlich eingrenzbar. Nach niederfrequenten CN-Injektionen markierte Spiralganglionzellen lagen in apikalen Cochleawindungen, während hochfrequentere Injektionen systematisch basaler gelegene Zellen markierten. Abb.35 zeigt dies schematisch an einer horizontalen Cochleaprojektion und gibt den Ort der markierten Zellkörper zusammen mit dem Projektionsbereich ihrer afferenten Dendriten auf der BM an. Dadurch wird eine direkte Korrelation von Frequenzabbildung und morphologischen Spezialisierungen der Cochlea ermöglicht (Vergleiche Abb.35 mit Abb.32).

Die Cochlearegion basal zur Verengung der Skala vestibuli enthielt markierte Zellen nach CN-Injektionen in Gebiete mit BFs von 111, 91, 85 und 74 kHz, wodurch der obere Bereich des Audiograms um die Frequenzen der dritten und vierten Harmonischen der Ortungslaute abgegrenzt ist. Die 111 kHz Injektion markierte afferente Dendriten, die innerhalb des basalsten Faserbündels der Hook-Region zur BM

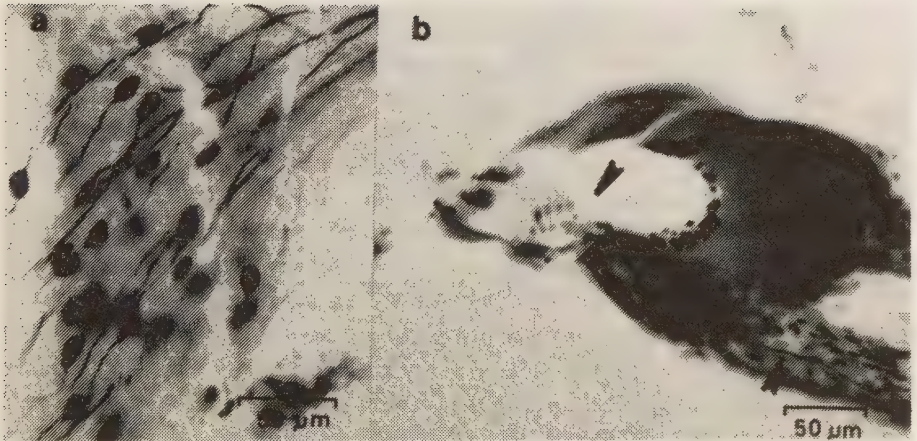


ABB.34 Markierte Spiralganglionzellen (a) und ein markierter afferenter Dendrit, der eine innere Haarzelle kontaktiert (b, Pfeile).

zogen. Nach der 74 kHz Injektion fand sich eine kompakte Gruppe markierter Zellen mit einem engen Projektionsfeld zum Corti-organ basal zur SV-Verengung.

Injektionen bei 66 und 69.8 kHz (d.h. 5.4 bzw. 9 kHz über der RF) ergaben eine breitere Verteilung von markierten Spiralganglionzellen entlang der spärlich innervierten Cochlearegion. Auch die markierten afferenten Terminalien waren weitgestreut. In beiden Fällen gab es kleinere Seitenprojektionen mit basal oder apikal zur Hauptgruppe markierter Zellen gelegenen Zellkörpern. Das Hauptprojektionsgebiet der 69.8 kHz Injektion lag genau an der Verengung der Skala vestibuli.

Drei Injektionen in CN-Regionen, in denen der CF2-Bereich (59.6, 60.6, 61.8 kHz Injektionsfrequenz) verarbeitet wird, hatten markierte Ganglionzellen in der 2. Halbwindung der Cochlea zur Folge. In derselben Cochlearegion ist auch das in Abb.32a (schwarzer Pfeil) gezeigte Innervationsmaximum zu finden. Nach einer Injektion 100 Hz über der RF waren Spiralganglionzellen mit afferente Dendriten markiert, die einen langen BM-Streifen innervierten (ca. 1.2 mm), obwohl die BF's von Neuronen ± 100 um vom Injektionsort entfernt gemessen nur um 400 Hz variierten. Zusätzlich zur Hauptprojektion war eine kleinere Gruppe markierter Zellen (19 von insgesamt 79) in apikaleren Cochlearegionen zu finden. Eine kleine Injektion 300 Hz über der RF (nur in Abb.37 gezeigt) markierte Spiralganglionzellen, die zu einer begrenzteren Cochlearegion projizierten, welche innerhalb der Grenzen des Projektionsfeldes der vorherigen Injektion (100 Hz über der RF) lag. Nach einer Injektion 800 Hz unterhalb der RF war eine Gruppe von Spiralganglionzellen markiert, deren Dendritenendigungen etwa 1.8 mm apikal gelegen waren als bei der Injektion 100 Hz über der RF. Alle drei Injektionen lagen unterhalb der SEOAE-Frequenz, wobei im Falle der 59.6 kHz Injektion die Injektionsfrequenz und SEOAE-Frequenz nur um 90 Hz differierten (siehe Tab.1).

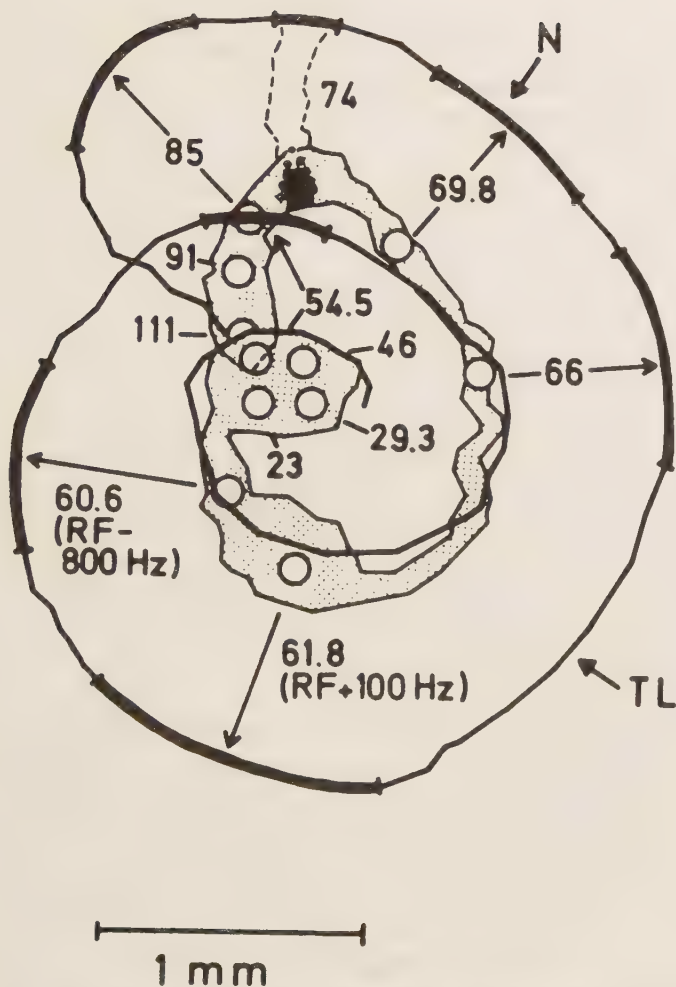


ABB.35 Horizontalprojektion der BM (dunkle Linie) und des Spiralganglions (gepunkteter Bereich); es handelt sich um dieselbe Cochlea wie in Abb.32b; markierte Zellkörper im Spiralganglion und die Grenzen, innerhalb derer markierte afferente Dendriten zur BM ziehen (gestrichelt) sind für eine HRP-Injektion in ein 74 kHz verarbeitendes CN-Gebiet gezeigt; Die Lage der markierten Spiralganglionzellen für Injektionen bei anderen Frequenzen sind durch leere Kreise zusammen mit der Injektionsfrequenz angegeben; für Injektionen bei Frequenzen zwischen 54.5 und 85 kHz sind die Projektionsbereiche auf der BM angedeutet (dicke Linien); die beiden Injektionen nahe der RF differieren nur um 900 Hz und können anhand ihrer deutlich getrennten Cochleaprojektionen unterschieden werden.

Injektionen in CN-Regionen mit BFs deutlich unterhalb der CF2 (54.5, 46, 29.3, 23 kHz), markierten Zellen in apikalen Teilen des Spiralganglions, welches in den inneren auditorischen Meatus verlagert ist und die apikalen Cochleawindungen versorgt. Die markierten Zellen aller niederfrequenten Injektionen lagen eng zusammengeballt in dieser Region. Aus diesem Grund gibt es für diese Zellen keine klare Korrelation ihrer Lage mit ihrem Projektionsbereich auf der BM. Die Analyse des Verlaufs der markierten afferenten Dendriten erbrachte jedoch die BM-Projektionsfelder, die, aus Übersichtlichkeitsgründen aus Abb.35 herausgelassen, in Abb.37 gezeigt werden. Während die bislang besprochenen niederfrequenten Injektionen mit relativ engen Projektionsgebieten ohne Nebenprojektionen korreliert waren, zeigt Abb.36 den Fall einer relativ großen Injektion an einer CN-Stelle, die durch eine Einzelzell-BF von 29 kHz charakterisiert war. Das Zentrum des Injektionsortes befindet sich in der mam-Gruppe, gleichzeitig sind jedoch auch Teile des angrenzenden AV markiert. Die Mehrzahl der markierten Zellen im Spiralganglion liegt sehr apikal und projiziert in die vierte Halbwindung, wie es anhand der tiefen Frequenz auch zu erwarten war. Etwa ein Drittel der Zellen befindet sich jedoch im zweiten Innervationsmaximum und entlang der basal daran anschließenden spärlich innervierten Region und projiziert in den Bereich der BM-Dickendiskontinuität. Die hochfrequente Cochleamarkierung entspricht somit höchstwahrscheinlich den BF der AV-Neurone direkt in Nachbarschaft zu den tieffrequenten mam Zellen. Nach erfolgter Injektion war die Einzelzellableitung nicht mehr möglich und nun war eine 28-30 kHz Vielfachableitung zusammen mit einer Vielfachableitung mit BF zwischen 61.4 und 64 kHz deutlich erfaßbar (SEOAE-Frequenz: 62.2 kHz). Dieser letztere hochfrequente Abstimmbereich entspringt wahrscheinlich benachbarten AV-Neuronen.

Abb.37 gibt zusammenfassend für alle Injektionen den Bezug zwischen Abbildungsfrequenz und dem Projektionsfeld der afferenten Dendriten auf dem Cortiorgan wieder. Die BM-Länge wurde auf 14.33 mm normiert, die Frequenzskala auf die indi-

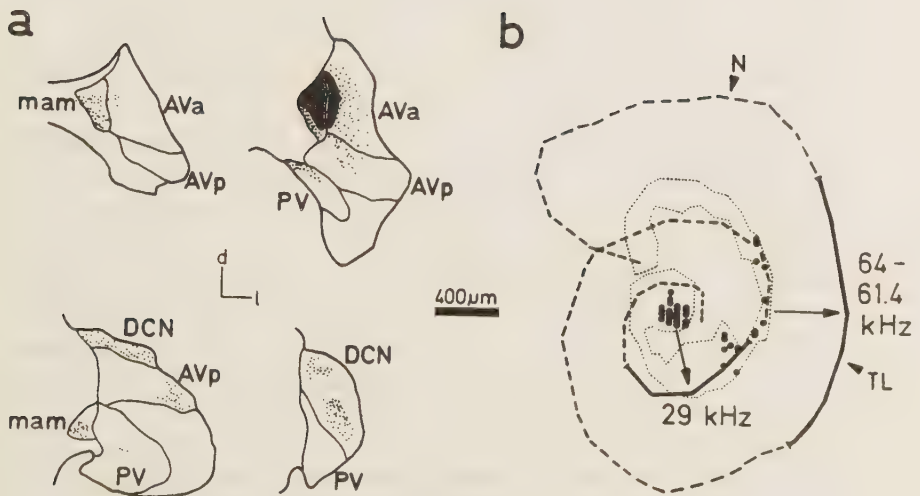


ABB.36 Eine Injektion in ein Grenzgebiet zwischen mam-Region und AV (a) führt zu zwei deutlich getrennten Projektionsbereichen in der Cochlea (b). Am Injektionsort konnte eine Einzelzelle mit 29 kHz BF und eine schwächere Mehrfachzellaktivität zwischen 61.4 und 64 kHz abgeleitet werden.

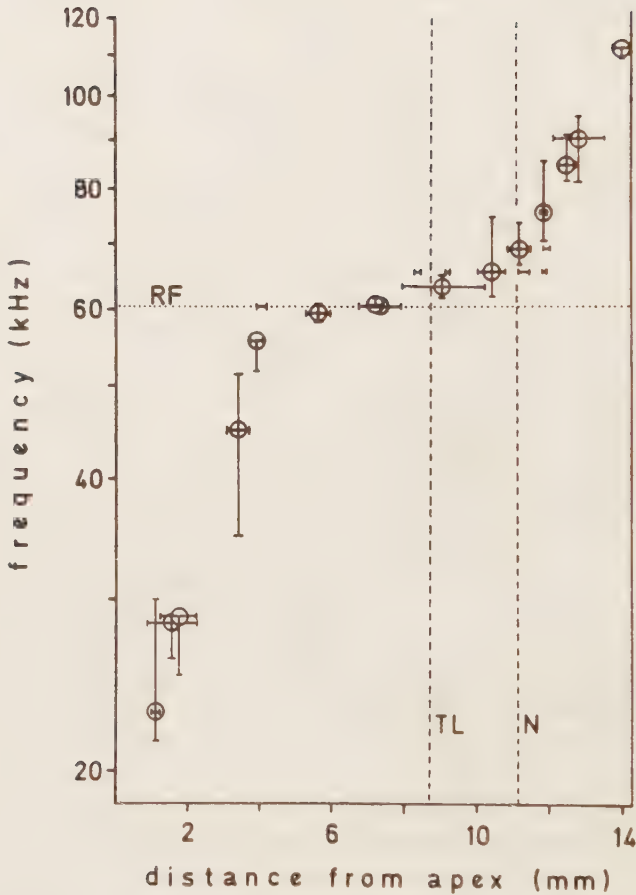


ABB.37 Cochlea-Frequenzkarte. Die BM-Länge ist normiert auf 14.33 mm; die Ordinate ist normiert auf die RF (Mittelwert: 60.5 kHz); vertikale Balken zeigen die Streuung der BF von Neuronen, gemessen in ± 70 bis ± 100 μ m Entfernung zum Zentrum des Injektionsortes; horizontale Balken geben die Weite der Terminationfelder markierter afferenter Dendriten auf der BM an, wobei das geometrische Zentrum dieser Bereiche als Abbildungsort der entsprechenden Frequenz definiert wird. Die Lage der Skala vestibuli Verengung (N) und des "thick lining" Abbruches (TL) sind durch gestrichelte Linien angegeben;

viduelle RF der einzelnen Tiere. Es können 3 Cochleabereiche deutlich voneinander unterschieden werden: (a) in einem engem Bereich in 0-4 mm Entfernung zum Apex werden die tiefsten Frequenzen bis zu 54 kHz abgebildet. Das Projektionsgebiet für die niedrigste Injektionsfrequenz (23 kHz) hat eine Entfernung von ca. 1 mm zum Apex. (b) In der mittleren Cochlearegion von 4 bis 11.1 mm Entfernung vom Apex ist das schmale Frequenzband zwischen 54 und etwa 70 kHz repräsentiert. Im Zentrum dieses expandierten Cochleabereiches liegt die CF2. (c) Frequenzen zwischen 70 und 111 kHz werden auf ein kurzes Stück BM im basalsten Teil der Cochlea (11.1 bis 14.3 mm vom Apex entfernt) abgebildet.

Der Abbildungsort für den neuronal überrepräsentierten und besonders sensitiven und scharf abgestimmten Frequenzbereich um die CF2-Frequenz liegt demnach in der zweiten Halbwindung der Cochlea und korreliert mit der Lage des Maximums der Innervationsdichte. Dieser Frequenzbereich ist zusammen mit den oberen Bereichen der FM2-Frequenz und Frequenzen bis zu etwa 9 kHz überhalb der RF gespreizt abgebildet: 15 kHz nehmen ca 50% der BM-Länge ein. Der Bereich von 60.6 (RF-800 Hz) bis 61.8 kHz (RF +100 Hz), also 900 Hz bezogen auf die RF, ist dabei maximal gespreizt (2 mm/kHz) und nimmt 12.2 % der Cochlealänge ein.

Die nach der Injektion nur 90 Hz unterhalb der Frequenz der otoakustischen Emission bei (Tier 4) markierten Spiralganglionzellen und afferenten Dendriten liegen genauso wie die der zwei obigen Injektionen um die RF im Bereich des Innervationsdichtemaximums direkt apikal zur sprunghaften BM-Dickenabnahme und zum TL-Abbruch. Deshalb kann davon ausgegangen werden, daß sowohl die RF als auch die Emissionsfrequenz im Gebiet weniger stark verdickter BM apikal zur den morphologischen Diskontinuitäten abbgebildet sind.

6. Diskussion

6.1. Frequenzabbildung in der Cochlea im Vergleich zur Katze

In der Cochlea von Pteronotus sind zunehmend höhere Tonfrequenzen ähnlich wie bei anderen Säugern (Bekesy 1960) systematisch vom Apex zur Basis repräsentiert. In akustisch unspezialisierten Säugern, wie der Katze, werden die Frequenzen in logarithmischer Beziehung zur BM-Länge abgebildet (Liberman 82). Von dieser Norm weicht Pteronotus ab, da der Frequenzbereich zwischen 54 und 70 kHz expandiert ist. Um die Abbildungskurve von Pteronotus mit der der Katze vergleichen zu können, wurden drei BM-Abschnitte von Pteronotus (tieffrequenter und hochfrequenter BM-Bereich und Bereich der expandierten mittleren Frequenzen) mit den BM-Längen verglichen, die diese Frequenzbereiche in der Katze einnehmen würden (Tab.2). Die BM-Längen für höhere Frequenzen als 35 kHz wurden aus der Frequenzkarte von Liberman (82) logarithmisch extrapoliert.

Tabelle 2:

Frequenzbereich (kHz)	22.3-111	22.3-53.5	60.2-66.6	69.8-111
Frequ.differenz (kHz)	88.7	31.2	6.4	41.2
BM-Länge Pter. (mm)	12.94	2.78	4.89	2.86
BM-Länge Katze (mm)	8.24	4.48	0.52	2.83
BM(Pter.) / BM(Katze)	1.57	0.62	9.40	1.01

Aus diesem Vergleich wird deutlich, daß der gesamte Hörbereich zwischen 22 und 111 kHz in Pteronotus etwa die 1.6-fache BM-Länge beansprucht wie dies bei einem nichtspezialisierten Säuger zu erwarten wäre. Der Bereich zwischen 60 und 66 kHz ist stark expandiert und hat eine fast 10-fach größere Ausdehnung als der entsprechende Bereich in der Katze hätte. Die für den tiefen Frequenzbereich zwischen 22 und 53 kHz verfügbare BM-Länge ist um den Faktor 0.6 verringert.

Nur der hohe Frequenzbereich zwischen 70 und 111 kHz erscheint hinsichtlich seiner BM-Ausdehnung in Pteronotus nicht spezialisiert zu sein, da er die BM-Länge beansprucht, die auch von der Katze zu erwarten gewesen wäre.

6.2 Cochlea-Frequenzabbildung im Vergleich zu Rhinolophus

Interessant ist der Vergleich zu der, mit gleichen Methoden aufgestellten, Frequenzkarte von Rhinolophus rouxi (Vater et al 85) (Abb.38), einer in Indien und Ceylon vorkommenden Hufeisennase, die ein ähnliches Echoortungsverhalten wie Pteronotus zeigt und ebenfalls CF-FM-Laute ausstößt (CF-Frequenz: 78 kHz). Beide Frequenzabbildungskurven haben im niederfrequenten Bereich und um die RF etwa vergleichbare Steigungen. Auch bei Rhinolophus korreliert die Repräsentation der RF mit einem Innervationsmaximum und der expandierte Frequenzbereich umschließt den oberen FM-Bereich (78-76 kHz) bis einschließlich eines schmalen Frequenzbandes überhalb der RF (bis 81 kHz) (Vater et al. 85). Ähnlich wie bei Pteronotus sind Frequenzen zwischen ca. 5 und 10 kHz überhalb der RF in einem stark verdicktem, nur spärlich innerviertem BM-Bereich repräsentiert. Im Gegensatz zu Pteronotus werden jedoch in Rhinolophus keine Neurone mit BF mehr als 10 kHz oberhalb der RF gefunden (Feng und Vater 85) und entsprechend auch keine, mit der HRP-Methode erfassbare Cochlearepräsentation dieser Frequenzen. Pteronotus hat hingegen basal zur spärlich innervierten Region ein weiteres Innervationsmaximum direkt an der Cochleabasis und es werden dort Frequenzen zwischen etwa 74 und 111 kHz abgebildet. Diese Daten korrelieren gut mit der relativen Intensitätsverteilung der Harmonischen der Orientierungsrufe dieser zwei Spezies. Bei Pteronotus ist die dritte Harmonische mit einem CF-Anteil von ca. 92 kHz nur etwa 6-12 dB leiser als die dominante zweite Harmonische (Suga 1984) und spielt eine wichtige Rolle bei der Verarbeitung akustischer Information, wie Ableitungen vom auditorischen

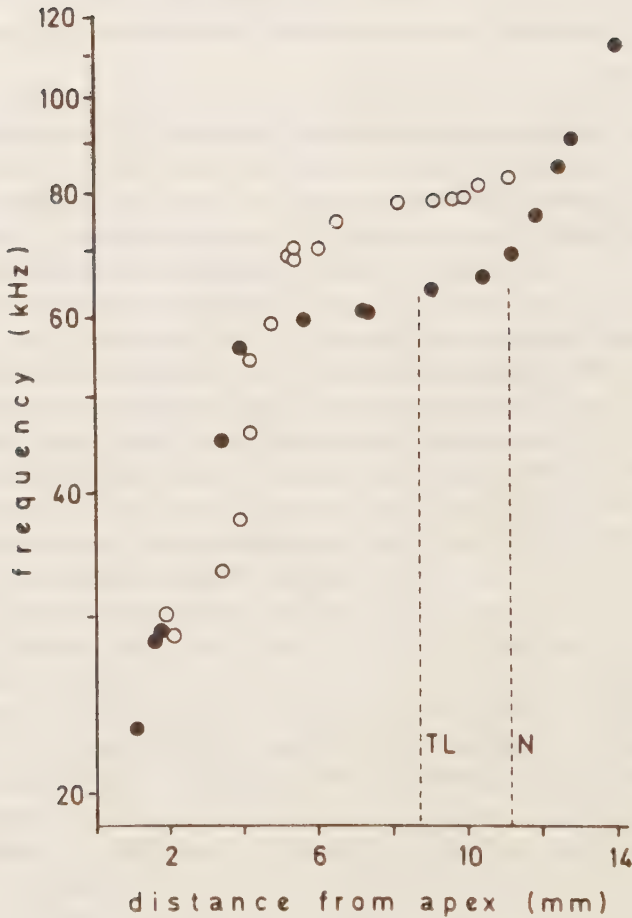


ABB.38 Vergleich der Frequenzkarten von *Pteronotus* (gefüllte Kreise und *Rhinolophus* (leere Kreise; von Vater et al. 85). Beide Kurven zeigen eine hohe Steigung im Bereich tiefer Frequenzen, während für ein enges Frequenzband um die RF (60.5 kHz in *Pteronotus*, 78 kHz in *Rhinolophus*) ein sehr ausgedehnter BM-Abschnitt zur Verfügung steht.

Cortex zeigen (Suga 1984). Im Echoortungssignal von Rhinolophus ist die dritte Harmonische nur sehr schwach und ihre Bedeutung für die Informationsverarbeitung ist fraglich, da die Hörempfindlichkeit in diesem Frequenzbereich schlecht ist (Neuweiler und Vater 77, Long und Schnitzler 75, Schuller 80).

6.3 Wie korrelieren Basilarmembran-Verdickungen mit abgebildeter Frequenz und wie könnten sie die Abstimmungsschärfe erhöhen ?

Um Einblick in die mechanische Funktion spezialisierter morphologischer Strukturen zu gewinnen, wurde deren genaue Lage in Bezug auf die Frequenzkarte ermittelt. Als auffälligste Spezialisierung der Basilarmembran sind hierbei die BM-Verdickungen von besonderem Interesse. Bei Pteronotus sind die Verdickungen nicht so stark ausgeprägt (Henson 78) wie bei Rhinolophus (Bruns 1976: maximale Dicke von 23 μm versus 35 μm) und der Übergang von stark verdickter zu schwach verdickter BM ist gradueller. Jedoch die Beziehung von Diskontinuitäten der BM-Dicke zur Frequenzabbildung ist sehr ähnlich zu Rhinolophus. Bei beiden Fledermäusen liegt der BM-Abschnitt, auf dem die Frequenzen der zweiten Harmonischen des Echoortungssignales abgebildet werden (78 kHz bzw. 61 kHz) innerhalb der zweiten Halbwindung und ist weniger verdickt als eine direkt basal gelegene Zone maximaler Verdickung. Dies unterstützt die Idee (Vater et al. 85), daß BM-Spezialisierungen, die basal zum Abbildungsort des scharf abgestimmten Schwellenminimums liegen, wichtig sind für die Erzeugung dieser scharfen Abstimmung: Beim Übergang von der Zone starker Verdickung zu der apikaleren elastischeren BM sollte die Auslenkungsamplitude für akustische Wellen zunehmen, da kleine Bewegungen und große Kräfte sich umwandeln in große Bewegungen und kleine Kräfte, ähnlich einem "Horn-Effekt" (Bekesy 60). Bei Pteronotus fällt die Lage der BM-Dickendiskontinuität mit anderen morphologischen Spezialisierungen zusammen: das "Thick lining" verschwindet und das Spiralligament (Henson 78,

Abb.32) ist lokal vergrößert. Die Rolle des "thick linings" ist noch unklar, das Spiralligament dürfte die Schwingcharakteristik der BM stark beeinflussen. Henson et al. (85) schlagen vor, daß das Spiralligament eine radiale Spannung auf die BM ausübt und derart die Vibrationsfähigkeit steuert.

Bei Rhinolophus erstreckt sich die maximal verdickte BM bis zur Cochleabasis, in Pteronotus hingegen nimmt die BM-Dicke in der basalsten Halbwindung wieder ab. Durch die Verengung der Scala Vestibuli wird dieser basale Cochleateil deutlich separiert von der zweiten Halbwindung, wo die RF abgebildet ist. Dies wirft die Frage auf, ob möglicherweise die räumliche Entkoppelung und die verringerte BM-Dicke wichtig für die gute Wahrnehmung der hohen Frequenzen über 70 kHz ist.

Wenn man die BM-Dicke als einen wichtigen Faktor ansieht, durch den die elastischen Eigenschaften der BM bestimmt werden, so erhebt sich die Frage, ob nicht im Bereich der Frequenzen über 70 kHz bei Pteronotus ein umgekehrter Steifheitsgradient der BM vorliegt. Bei anderen Säugern erhöht sich die BM-Steifheit von apikal nach basal, bedingt durch eine Zunahme der BM-Dicke und eine Abnahme der BM-Weite. Bei Pteronotus jedoch nimmt im Abbildungsbereich zwischen 70 und ca. 90 kHz die BM-Dicke zur Basis hin ab. Da in diesem Cochleaabschnitt die BM-Weite konstant bleibt (Henson 78) zeigt auch der, als Abschätzung für die Steifheit der BM errechnete Quotient von BM-Dicke und Weite einen deutlichen Abfall in Richtung Basis (Abb.39), in genau umgekehrter Richtung, wie dies in einer normalen Cochlea oder auch in anderen Bereichen der Cochlea von Pteronotus der Fall ist. Im Gegensatz zu diesen Steifheitsabschätzungen zeigt die Frequenzabbildung in der ersten Halbwindung die normale Richtung, die höchsten Frequenzen sind am weitesten basal repräsentiert. Dies könnte bedeuten, daß der Quotient aus Dicke und Weite nicht ausreicht, um die tatsächliche Steifheit der BM auszudrücken. Hier ist anzumerken, daß auch andere Abschätzungen² der Steifheit, wie z. B. der Quotient aus Dicke² und Weite⁵ qualitativ das gleiche Bild ergaben.

Falls nun aber tatsächlich ein Bereich umgekehrt abnehmender Steifheit existiert, so müssen andere Faktoren dafür sorgen, daß die Frequenzabbildung in der normalen Richtung abläuft. Möglicherweise bewirken die BM-Verdickungen, die auch für den Bereich 70-90 kHz vorhanden sind, eine starke longitudinale Kopplung verschiedener BM-Bereiche und Abschnitte mit invertierter Frequenzabbildung sind deshalb nicht zugelassen.

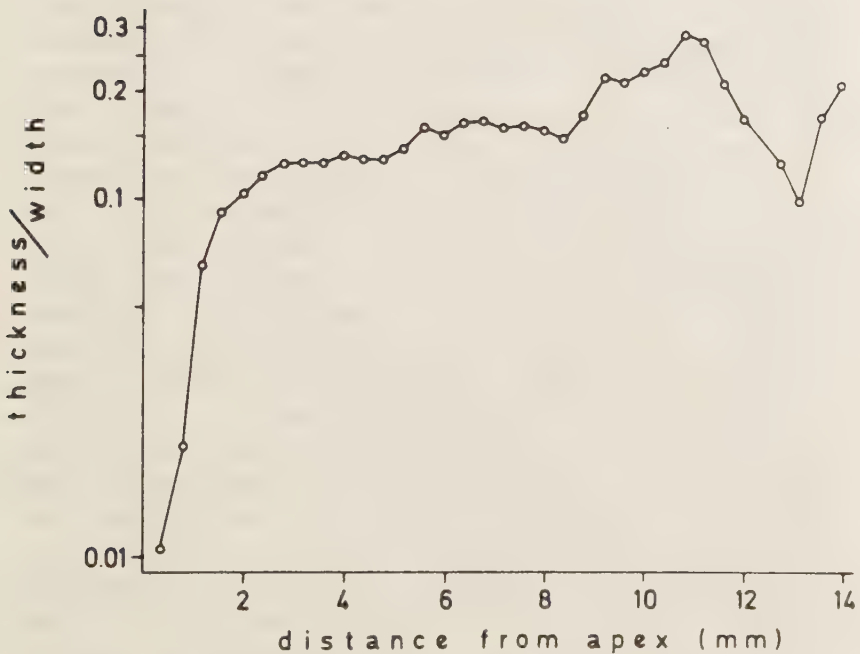


ABB.39 Abschätzung der BM-Steifheit von Pteronotus aus dem Quotienten BM-Dicke zu BM-Weite (BM-Weite Daten von Henson (78)).

6.4. Welche Bedeutung haben otoakustische Emissionen für Sensivität und Abstimmsschärfe und wie werden sie erzeugt?

Da bei Pteronotus die BM-Dickendiskontinuität deutlich schwächer ausgeprägt ist als bei Rhinolophus, Pteronotus aber dennoch eine sehr gute cochleäre und neuronale Abstimmsschärfe besitzt, müssen neben dem oben diskutierten Horn-effekt und anderen mit der BM-Dickendiskontinuität zusammenhängenden Verschärfungseffekten (Duifhuis und Vater 85) für Pteronotus zusätzliche Mechanismen angenommen werden, die diese Leistung ermöglichen. Im Vergleich zu Rhinolophus sind bei Pteronotus cochleäre Resonanzphänomene, d.h. CM-Nachschwingungen und die Aussendung otoakustischer Emissionen sehr viel stärker ausgeprägt (Suga et al. 75., Henson et al. 85, Kössl und Vater 85). Derartige Resonanzen könnten durch aktive Rückkopplungsvorgänge in den OHC oder durch passiv mechanische Vorgänge entstehen. Eng gekoppelt an die Frage nach der aktiven oder passiven Natur des Resonators ist die nach seiner Lage: Ist der Resonator lokal auf einen engen Cochleabereich, z.B. den Abbildungsort für die Emissionsfrequenz, beschränkt, oder sind größere Cochlearegionen an dem Zustandekommen der Schwingungen und vor allem an deren Aufrechterhaltung und Verstärkung beteiligt?

Die exakte Übereinstimmung der SEOAE-Interferenzfiguralwendepunkte mit der Frequenz des CM-Maximums, und auch deren gleichartiges Sättigungsverhalten sowie die sehr ähnliche Beeinflussbarkeit durch maskierenden Schall legen nahe, daß beide Phänomene eng gekoppelt sind. CM stellen höchstwahrscheinlich das Rezeptorsummenpotential der Haarzellen (vor allem der OHC) dar (Tasaki et al. 54, Davis 65, Russell und Sellick 78). Die OHC können aktive Bewegungen und Formveränderungen durchführen (Zenner et al. 85, Brownell et al. 85). Dies zeigt, daß sie metabolische in mechanische Energie umsetzen können, was möglicherweise auch für die Aussendung der Emissionen wichtig sein kann. Wenn der, die Emissionen erzeugende Mechanismus jedoch in den den Haarzellen loka-

lisiert ist, dann müßten lokale Haarzellspezialisierungen in der Cochlea gefordert werden, wie sie bislang noch nicht berichtet sind, um der Frequenzspezifität der Emissionen Rechnung zu tragen. Darüber hinaus bleibt es nachzuweisen, ob mikromechanische Vorgänge in den Haarzellen der großen Amplitude (70 dB SPL) der hochfrequenten Emissionen von Pteronotus Rechnung tragen können. Um die enge Kopplung zwischen CM und Emissionen zu verstehen, ist es wahrscheinlich ausreichend, sich vor Augen zu halten, daß die CM als Rezeptorpotential natürlich jegliche mechanische Vorgänge, die mit einer Auslenkung der BM verbunden sind, relativ genau widerspiegeln, und daß deshalb das, an die Emissionen gekoppelte, verstärkte Auftreten von mechanischen Wellen einer spezifischen Frequenz als Ursache für das CM-Maximum anzusehen ist.

Von größerer Bedeutung als die Haarzellen für das Zustandekommen der Emissionen und für die höhere Sensitivität und Abstimmungsschärfe im gleichen Frequenzbereich könnten die makroskopischen Spezialisierungen der Cochlea sein. Sowohl die Verengung der Scala vestibuli zusammen mit dem BM-Dickenmaximum als auch die, weiter apikal liegende, steile Dickenabnahme, deren Lage korreliert ist mit dem TL-Abbruch und der Spiralligamentenerweiterung, stellen drastische Diskontinuitäten der Cochleastruktur dar. An diesen könnten die einfallenden akustischen Wellen zunächst passiv reflektiert werden und dann in umgekehrter Richtung wandernd die Cochlea wieder verlassen, um im äußeren Gehörgang dann als evozierte OAE zu erscheinen. Durch multiple Reflexionen zwischen den Cochlea-internen Diskontinuitäten und dem ovalen Fenster, das ebenfalls eine Reflexionsfläche darstellt, könnten dann Wellen einer Vorzugsfrequenz in ihrer Amplitude verstärkt werden und es sollten dann stehende Wellen in der Cochlea auftreten. Neben solchen, rein passiven Vorgängen deutet die Abhängigkeit der Emissionen von dem physiologischen Zustand des Tieres (Kössl und Vater 85) und die Sättigung der Emissionsamplitude auf die Beteiligung aktiver metabolischer Prozesse hin. Dies muß jedoch nicht unbedingt bedeuten, daß metabolische direkt in akus-

tische Energie umgesetzt wird. Denn auch für passive Reflexionen sollte der metabolische Zustand der Gesamtochlea wichtig sein. So ist es denkbar, daß z.B. durch Kontraktionen der OHC das System Tektorialmembran-Basilararmembran in einem Steifheitszustand gehalten wird, der für das Zustandekommen der Reflexionen und deren retrograde Ausbreitung wichtig ist. Auch das Spiralligament könnte, durch Anspannung kontraktile Elemente (Henson et al. 84), auf die, für eine Reflexion wichtigen, Randbedingungen Einfluß ausüben.

Der Befund, daß vor allem Frequenzen zwischen ca. 61 und 70 kHz dazu geeignet sind die SOAE akustisch zu maskieren (Kössl und Vater 85, Abb.2) ist ein weiteres Indiz dafür, daß vor allem Cochleabereiche die basal zum Abbildungsort der Emissionsfrequenz liegen, also am Ort höherer Frequenzen, an der Emissionserzeugung beteiligt sind. Da bislang noch keine Modelle für die Cochleamechanik von Pteronotus vorliegen und auch direkte mechanische Messungen noch ausstehen, bleibt es offen, welche der beiden Diskontinuitätszonen die für die Emissionsentstehung wichtigere ist. Näher am Abbildungsort der Emissionsfrequenz liegt zweifellos die BM-Dickenabnahme zusammen mit dem Abbruch des "thick linings". Dennoch könnten durchaus auch an der basaleren Diskontinuität Wellen niedrigerer Frequenz, als sie dem BM-Abbildungsort an dieser Stelle entspricht, reflektiert werden oder der stark verdickte BM-Abschnitt könnte als Ganzes resonieren. Da die Maskierungsversuche zeigen, daß sowohl die Frequenzen um 62 kHz als auch der 70 kHz Bereich für das Zustandekommen der Emission und des CM-Maximums wichtig sind, ist es auch möglich, daß die akustischen Wellen an beiden morphologischen Diskontinuitäten reflektiert werden.

Problematisch bleibt die Frage, warum bei Rhinolophus, welche eine noch ausgeprägtere BM-Diskontinuität und ebenfalls eine sehr scharfe Abstimmung im RF-Bereich aufweist, keine OAE überhalb des Rauschpegels der Messapparatur (ca. 15 dB SPL) festzustellen sind (Henson et al 85). Potentielle OAE von Rhinolophus hätten also eine Amplitude von weniger

als 15 dB SPL im Vergleich zu 70 dB SPL bei Pteronotus. Die Reflexionen sind möglicherweise in der Cochlea von Rhinolophus sehr viel schwächer ausgeprägt und der oben diskutierte Horneffekt zusammen mit der möglichen Ausbildung eines mechanischen Interferenzfilters durch die BM-Dicken-diskontinuität (Duifhuis und Vater 85) ist für diese Spezies ausreichend zur Herstellung der hohen Abstimmsschärfe. Da Rhinolophus eine sehr starke BM-Dickendiskontinuität aufweist und dennoch keine Emissionen meßbar sind, könnte dies für das BM-Dickenmaximum zusammen mit der Skalenverengung als Hauptreflexionszone bei Pteronotus sprechen. Es kann jedoch auch sein, daß unabhängig von der Natur der Reflexionspunkte die mögliche Ursache für hohe Emissionsamplituden bei Pteronotus in der, bei Rhinolophus nicht vorliegenden, BM-Dickenabnahme und der eventuell umgekehrten Steifheit zur Basis hin liegt. Wenn nämlich die Steifheit tatsächlich zur Basis hin abnimmt, dann müßten nach einem Modell von von Bekesy (1960), in welchem er die BM umkehrt, d.h. mit dem steifen Teil apikal, aufgehängt hat, "paradoxe" Wellen auftreten. Diese Schwingungen würden zuerst im steifen Teil (apikal) auftreten und dann in Form einer retrograden Wanderwelle in umgekehrter Richtung zu ihrem Ursprung, d.h. zum bewegten Stapes nach basal wandern. Pteronotus könnte also möglicherweise dieses, mehr nach einer Spielerei anmutende, mechanische Modell von von Bekesy verwirklicht haben und mit dem lokal invertiertem Steifheitsmuster die retrograde Wellenausdehnung stark erleichtern und die Emissionsamplitude erhöhen.

6.5. Vergleich der Schwellenkurven von Mikrophonopotentialen und Hörnervsummenpotentialen

In Übereinstimmung mit entsprechenden CM- und RF-Daten von Henson et al. (82) fällt die Frequenz des CM-Amplitudenmaximums und der OAE mit einem CM-Schwellenminimum zusammen, welches einige hundert Hertz über der RF des untersuchten Tieres bei 61.80 kHz liegt (Abb.1,3). Das N1-on-Schwellenminimum ist weniger stark ausgeprägt und liegt mehr

als 2 kHz über dem CM-Schwellenminimum. Dieser Unterschied wird von Suga und Jen (77) ebenfalls gefunden und damit erklärt, daß bedingt durch die Cochlearesonanz die Anstiegssteilheit der CM-Antwort auf kurze Tonpulse von ca. 61 kHz verringert ist und damit die ersten entstehenden Aktionspotentiale in ihrer Latenz auf den Beginn des Tonpulses weniger gut synchronisiert sind als bei anderen Frequenzen. Da das N1-on Signal ein Summenpotential ist, würde die schlechte Synchronisation das Zustandekommen eines N1-on Schwellenminimums an der Resonanzfrequenz verhindern. Das N1-off Minimum ist sehr viel ausgeprägter und liegt etwa 500 Hz unterhalb des CM-Minimums, was in Übereinstimmung mit Suga et al. (75) und Suga und Jen (77) steht, aber den Befunden von Pollak et al. (79) widerspricht, die in 7 von 9 Tieren das N1-off Minimum um bis zu maximal 450 Hz überhalb des CM-minimums verschoben fanden.

Davon ausgehend, daß das N1-on Minimum etwa 2 kHz über und das N1-off Minimum 500 Hz unter dem CM-Minimum liegt, ist es wahrscheinlich, daß on- und off-Potentiale verschiedene cochleären Vorgänge widerspiegeln. Das N1-on Minimum entspricht wahrscheinlich dem ersten Aktionspotential von (höchstwahrscheinlich) tonischen neuronalen Aktivitäten, die am empfindlichsten an oder überhalb der CM-Resonanzfrequenz sind. Das N1-off Minimum entspricht einer, durch tiefere Frequenzen erregten Neuronenaktivität, die selbst on-off Eigenschaft hat, d.h. die Neurone antworten mit jeweils nur einem Aktionspotential auf Stimulusbeginn und -ende. Derartige Einzelzell on-off Eigenschaften konnten Suga et al. (75) für Frequenzen unterhalb des besten tonischen Antwortbereichs finden. Da das on-off Gebiet etwas unterhalb der CM-Resonanzfrequenz liegt, könnten die, sich langsam aufbauenden, höherfrequenten Resonanzschwingungen dort, bedingt durch Phasenverschiebungen zur primären Stimulusschwingung, zu Auslöschvorgängen führen (siehe auch 5.2.1), die von einer ursprünglich tonischen Antwort nur noch die schnelle on-Komponente übriglassen. Nach Stimulusende würde dann die nachschwingende Resonanz die off-Antwort bewirken.

6.6 Rolle der Efferenzen bei der Entstehung von otoakustischen Emissionen

Trotz heftiger Forschung ist die physiologische Bedeutung der efferenten Versorgung der Cochlea von Säugern noch nicht geklärt. Bei efferenter Reizung erhöhen sich die CM (Desmedt und Monaco 61). Dies deutet auf eine Beeinflussung der OHC hin, wodurch möglicherweise die Mikromechanik der Cochlea verändert wird. Tatsächlich zeigen Versuche von Mountain (1980) und Siegel und Kim (1982), daß Zwei-Ton Verzerrungsprodukte, die mechanisch in der Cochlea entstehen, durch efferente Reizung beeinflußt werden. Während akustischer Reizung läßt sich auch der Gesamtschallpegel, der im äußeren Gehörgang messbar ist, durch efferente Reizung geringfügig in Amplitude und Phase verändern (Guinan jr. 86). Durch die Inaktivierungsversuche der vorliegenden Arbeit konnte ausgeschlossen werden, daß die Efferenzen in Form eines Rückkopplungssystems Einfluß auf die mechanisch erzeugten Emissionen haben und daß keine tonische Aktivität des efferenten Systems nötig ist für ein normales Funktionieren der Cochleamechanik, soweit es sich in den Emissionen widerspiegelt.

Die elektrischen Reizversuche bei Pteronotus sind problematisch, da im Gegensatz zu den Messungen von Guinan jr. (86), der die Mittelohrmuskeln bei der Katze durchtrennte, das Mittelohr bei Pteronotus intakt blieb, um die Emissionen in keiner Weise schon vor der elektrischen Reizung zu verändern. Der Stapediusmuskel wird vom N. facialis innerviert, dessen Kerngebiet in unmittelbarer Nähe zum SOC liegt. Deshalb könnte in einigen Fällen durch elektrische Reizung dieser Muskel aktiviert und die mechanische Charakteristik des Mittelohres verändert worden sein. Dadurch wird eine Verformung der Trommelfells bewirkt, was, ähnlich wie eine Verformung des äußeren Gehörgangs, den messbaren Gesamtschalldruckpegel verändern sollte. Fälle von derartigen Änderungen des Gesamtpegels waren in meinen Versuchen immer gekoppelt an Zuckungen der Gesichtsmuskulatur (siehe Resul-

tate) und wurden deshalb als unspezifische Mittelohreffekte bewertet. Für die SEOAE-Abnahmen bei konstantem Gesamtschallpegel ist eine Beeinflussung des Mittelohres zwar unwahrscheinlich, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Mittelohrkontraktionen sollten jedoch, falls involviert, lediglich eine die Emission abschwächende Wirkung haben (Kössl und Vater 85). Dies bedeutet, daß die tatsächlichen efferenten Effekte möglicherweise noch kleiner sind als die festgestellten nur geringen Pegelabnahmen.

Die geringen Effekte efferenter Reizung (23.8 dB unter dem Stimuluspegel) sind vergleichbar zu denjenigen von Guinan jr. (86) bei der Katze (20 dB unter Stimuluspegel). Dies kann bedeuten, daß in Pteronotus die Emissionen in ähnlicher Weise von den Efferenzen abhängen wie weniger spezifische mechanische Vorgänge im Katzenohr, die für einen breiten Frequenzbereich durch efferente Reizung beeinflussbar waren (Guinan 86: 200 Hz -30 kHz). Da in Pteronotus keine Änderungen des Gesamtschallpegel bei spezifischer efferenter Reizung auftraten, müßte angenommen werden, daß hier nur der Frequenzbereich der Emission in ähnlicher Weise wie weite Cochleabereiche in der Katze auf efferente Reizung reagiert. Diese Aussage muß jedoch relativiert werden, da bislang von keinem anderen Säuger SEOAE-Daten bei efferenter Reizung vorliegen und Siegel und Kim (82) bei Messung der Zwei-Ton Verzerrungsprodukte nicht von unspezifischen Pegeländerungen während efferenter Reizung berichten. Es ist also noch offen ist, ob die Spezifität der in Pteronotus erzielten Effekte mit Messungen in der Katze vergleichbar ist.

Da die Änderungen des Emissionspegels nur sehr klein sind, werden die Emissionen entweder nicht maßgeblich durch die OHZ erzeugt oder kontrolliert, oder aber die Efferenzen haben keinen größeren Einfluß auf die Haarzellen. Selbst wenn man von der Annahme ausgeht, daß die Haarzellmikromechanik entscheidend von den efferenten Fasern abhängt, dann sollten die Haarzellen für den Fall, daß die Emissionen hauptsächlich durch passiv mechanische Reflektionen an den ausgeprägten strukturellen Diskontinuitäten entstehen, lediglich eine modulatorische Rolle spielen. Beispielsweise

könnten kontraktile Elemente in den OHC durch efferente Reizung zu Kontraktionen angeregt werden, wodurch die BM-Steifheit verändert und damit die OAE-Amplitude etwas eingeschränkt wird. Dieser oder ähnliche Prozesse sind jedoch offensichtlich von untergeordneter Bedeutung für die Erzeugung der OAE.

6.7 Welche Information über Cochleaeigenschaften lassen sich aus Einzelzelleableitungen im CN gewinnen?

Die Einzelzelleableitungen zeigen, daß ein hoher Prozentsatz der Neurone auf den Ortungssignalebereich bei 61 bis 62 kHz abgestimmt ist, wobei die Mehrzahl dieser Neurone näher an der SEOAE-Frequenz als an der RF liegt (Abb.10,11). Weitere Maxima der Neuronen-Verteilung liegen zwischen ca. 80 und 100 kHz und zwischen 24 und 32 kHz mit einer deutlichen Spitze für 27-29 kHz (d.h. im oberen FM1 und nicht im CF1 Bereich).

Aus den Auftragungen von BF gegen Schwelle wird deutlich, daß sowohl im Bereich von etwa 62 kHz als auch bei ca. 93-96 kHz Schwellenminima existieren, auf deren niederfrequenten Seite Bereiche relativer Insensivität liegen. Für die 60 kHz Region wird dies bestätigt durch, an mehreren Tieren gewonnenen, Daten von Suga und Jen 77. Im 30 kHz Gebiet liegt dieser Zusammenhang möglicherweise auch vor, kann jedoch wegen der geringen Anzahl von Neuronen mit BF größer als 29 kHz nicht aufgelöst werden. Weder für 30 kHz noch für 90 kHz weisen die Abbildungsregionen der Cochlea strukturelle Besonderheiten auf. Daher stellt sich die Frage, ob die Spezialisierungen für die 60 kHz Region, Einfluß auf die Verarbeitung der harmonischen Frequenzen haben. Dies würde zum einen bedeuten, daß der Resonator bei harmonischen Frequenzen angeregt wird. Weiterhin ist zu fordern, daß die derart verstärkten Schwingungen relativ problemlos zum Abbildungsort ihrer Frequenz gelangen, d.h. in retrograder Richtung für die 90 kHz (was wiederum erleichtert werden könnte durch die Möglichkeit paradoxer Wellen).

Sowohl im 60 kHz als auch im 90 kHz Bereich existieren

eine Reihe sehr scharf abgestimmter Neurone mit Q10dB Werten von maximal 340 (60 kHz) bzw 300 (90 kHz). Bei 30 kHz liegen die Q10dB Werte bei maximal 35 und sind somit nur geringfügig höher als in der Umgebung. Dies ist in Übereinstimmung mit Daten von Suga et al. (75). Suga und Jen (77) konnten maximale Q10dB-Werte von ca. 60 für 30 kHz Neurone messen, was zwar deutlich über denen des hier untersuchten Tieres liegt, jedoch ebenfalls sehr viel niedriger ist als in der 60 kHz Region. Die am schärfsten abgestimmten Neurone haben jedoch nicht die niedrigsten Schwellen, sondern sind für die 60 kHz Region um etwa 15 dB unempfindlicher und in ihrer BF um etwa 300 Hz tiefer als die sensitivsten Neurone, deren BF direkt an der SEOAE-Frequenz oder darüber liegt. Diese sehr scharf abgestimmten Neurone liegen somit an der niederfrequenten Flanke des Hörschwellenminimums. Es muß jedoch betont werden, daß auch die sensitivsten Neurone im Bereich um die SEOAE-Frequenz noch sehr gute Abstimmungen mit Q10dB Werten zwischen 100 und 200 haben. Für die 90 kHz Region gilt dasselbe in noch deutlicherer Form: die am schärfsten abgestimmten Neurone haben BF von ca 90.7 bis 91.5 kHz, während die sensitivsten Zellen BF zwischen 93 und 97 kHz aufweisen (siehe Abb.12).

Dieser Frequenzunterschied zwischen höchster Sensitivität und maximaler Abstimmungsschärfe könnte durch folgende Hypothesen erklärt werden: (1) Für den 60 kHz Bereich sind zwei getrennte Resonatoren in der Cochlea vorhanden, deren Schwingfrequenz um einige hundert Hertz differiert. Da der eine Resonator für hohe Abstimmungsschärfe, der andere für große Sensitivität ausgelegt wäre, müßten sie sich zumindest im Grad ihrer Dämpfung deutlich unterscheiden. Für hohe Sensitivität ist eine geringere Dämpfung zu fordern. (2) Die von einem Resonator erzeugten Schwingungen bilden sich mit veränderter Phase oder Frequenz in weiteren schwingfähigen Strukturen ab. Würde beispielsweise durch den primären Resonator eine BM-Schwingung erzeugt, so könnte diese eine phasenverschobene Deckmembranschwingung anregen. Bei der Umsetzung der mechanischen Schwingungen in Potentialänderungen an den Zilien der Haarzellen würde diese zweite Schwingung nun je

nach Phasenverschiebung zu der Grundschiwingung addiert oder von ihr subtrahiert werden. Abb.40 versucht diesen Zusammenhang zu verdeutlichen. Unter Verwendung einer aus Abb.12 gewonnenen Abschätzung der Hörschwelle für den 60 kHz Bereich soll dargestellt werden, daß hohe Sensitivität am Hörschwellenminimum von 62 kHz entstehen könnte durch additive Überlagerungen mit den Schwingungen des auf 62 kHz abgestimmten Resonators (schraffierter Bereich), während dieselben Resonanzschwingungen, wenn sie sich in Gegenphase zu den Schwingungen etwas tieffrequenter BM-Gebiete befänden, zu Auslöschvorgängen (schwarzer Bereich) führen würden, die die Abstimmsschärfe an der tieffrequenten Flanke des Hörschwellenminimums drastisch erhöhen könnten und so die maximal scharfen neuronalen Abstimmkurven in dieser Region erklärbar machen würden.

Unterstützt wird diese These durch CM-Messungen von Henson et al. 85, die zeigten daß im Bereich von 61 kHz Phasenverschiebungen von 220° pro 450 Hz vorliegen. Zwischen dem Ort maximaler Sensitivität und dem schärfster Abstimmung sollte optimalerweise eine Phasenverschiebung von 180° herrschen. Diese entspräche dann einem Frequenzunterschied von 360 Hz, was recht gut zu den hier gemessenen 300 Hz Frequenzunterschied in den BF von maximal sensiblen und maximal scharf abgestimmten Neuronen paßt. Ein weiterer Hinweis auf derartige Auslöschvorgänge ist das Auftreten von Einzelzell on-off Eigenschaften genau im Frequenzbereich knapp unterhalb des Bereichs höchster Sensitivität (Suga et al. 75, siehe auch 4.1.5). Es muß jedoch betont werden, daß derartige Auslöschvorgänge von komplexerer Natur sein dürften, als sie in Abb.40 dargestellt werden können. Bedingt durch die, kontinuierlich sich ändernde Phasenverschiebung und die entsprechendenden Interferenzen zwischen Reiz- und Resonatorschwingungen sollten Auslösch- und Summationsstellen in regelmäßigen Frequenzabständen um die Emissionsfrequenz vorhanden sein. Von diesen zu erwartenden Sensitivitäts- und Abstimmoptima lassen sich mit den hier vorliegenden Methoden wahrscheinlich nur die ersten beiden erfassen und detaillierte Untersuchungen sind nötig um diese These zu bestätigen.

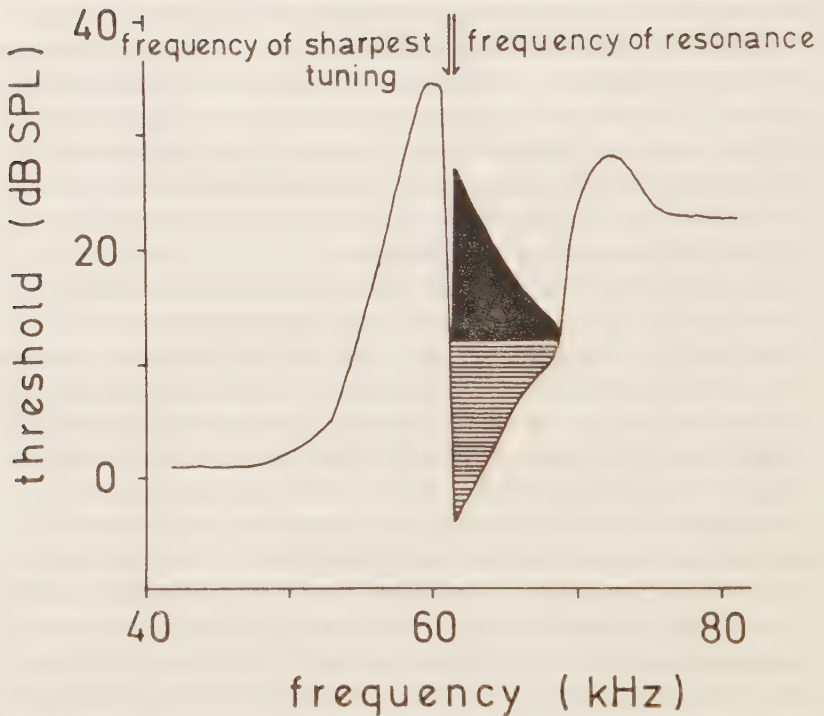


ABB.40 Abschätzung der Hörschwelle von Pteronotus in der Umgebung des Minimums bei etwa 62 kHz (gewonnen aus den BF von ABB.12) mit einem Bereich von Resonanzschwingungen, die je nach Phasendifferenz addiert (schraffiert) oder subtrahiert (ausgefüllt) werden und dadurch entweder hohe Sensitivität bei 62 kHz oder sehr scharfe Abstimmung etwas unterhalb erzeugen könnten.

Abstimmkurven

Die Abstimmkurven von Neuronen mit einer BF direkt an oder knapp überhalb der OAE-Frequenz sind asymmetrisch nach hohen Frequenzen hin geöffnet und weichen damit deutlich vom normalen Typus einer nach tiefen Frequenzen geöffneten oder symmetrischen Abstimmkurve ab. Dies steht im Gegensatz zu Suga und Jen (77), die bei zwei Tieren die hoch- und tief-frequenten Flanken von 19 bzw. 18 Abstimmkurven bestimmten und daraus eine symmetrische Durchschnittsabstimmkurve konstruierten. Da die BF der von ihnen erfassten Neuronenpopulation jedoch alle innerhalb eines engen Bereiches von 500 Hz liegen, in welchem die Q10dB Werte maximal sind, ist es wahrscheinlich, daß sie die etwas höherfrequenten asymmetrischen Tuningkurven in ihrer Stichprobe nicht berücksichtigten.

Unter der Annahme, daß die Form der Abstimmkurven im ventralen CN nicht wesentlich durch neuronale Inhibition beeinflusst ist, spiegelt sie Eigenschaften von Hörnervfasern und damit der Cochlea wider. Die nach hochfrequent geöffnete Abstimmkurve könnte in diesem Sinne durch verschiedenartige Phänomene bedingt sein: (1) an der tieffrequenten Flanke liegt eine Zone relativer Insensitivität, die beispielsweise durch mechanische Auslöschvorgänge, wie sie bereits oben diskutiert wurden, erzeugt werden könnte oder/und (2) an der hochfrequenten Flanke ist die longitudinale Kopplung erhöht. Dies ist relativ wahrscheinlich angesichts der starken BM-Verdickungen, wie sie in diesem Frequenzbereich vorliegen. Wenn der vestibuläre Anteil des Pars pectinata longitudinale Fasern aufweist wie bei Rhinolophus, könnten diese bewirken, daß die verdickte Region mehr oder weniger in ihrer Gesamtheit schwingt, angeregt durch Frequenzen im Bereich OAE-Frequenz bis ca. 70 kHz. Auch die Maskierbarkeit der OAE durch Frequenzen zwischen 60 und 70 kHz (Kössl und Vater 85, Abb.2) weist auf starke Interaktionen in diesem Cochleabereich hin.

6.8. Frequenzrepräsentation im Nucleus cochlearis

Soweit mit der HRP-Methode erfaßbar, erhalten alle 3 Unterkerne des CN eine vollständige, cochleotopie Frequenzabbildung ähnlich wie bei anderen Säugern (Irvine 86). In allen 3 Unterkernen ist der RF-Bereich deutlich überrepräsentiert, aber auch die CF3 Frequenzen (Injektionen bei 85 und 91 kHz) nehmen zumindest im AV einen überproportional großen Raum ein (Abb.21). Dieser Frequenzbereich liegt in der Cochlea zwar nicht gespreizt vor, die Innervationsdichte für den entsprechenden BM-Bereich ist jedoch besonders hoch (Abb.32). Für den PV ist bemerkenswert, daß der Beginn der Cochleafrequenzspreizung bei 54 kHz genau zusammenfällt mit der Grenze zwischen PVl und PVm. Dies macht deutlich, daß die Überrepräsentation eines bestimmten Frequenzbereichs mit Änderungen der morphologischen Struktur korreliert.

Als interessantestes Ergebnis ist die Spezialisierung der mam Zellen auf den CF1/FM1- Bereich anzusehen. Die vorliegende Arbeit kann zwar nicht ausschließen, daß nicht auch andere Frequenzen von dieser Zellgruppe verarbeitet werden, aber auf jeden Fall existiert eine sehr deutliche Überrepräsentation der tiefen Frequenzen in diesem Unterkerngebiet. Dies wird sowohl aus der Lage der HRP-Injektionsorte und der markierten Terminalienbanden, als auch aus den physiologischen Ergebnissen deutlich. Weiterhin wird dieser Befund auch bestätigt durch Zook und Casseday (85), die bei einem Tier HRP in einen sehr lateralen und deshalb höchstwahrscheinlich (falls die LSO-Tonotopie von Pteronotus dem üblichen Säugerschema entspricht) tieffrequenten LSO-Bereich injizierten, und dann vor allem in der mam Gruppe retrograd markierte Zellen fanden. Retrograd markierte Neurone wurden von Zook und Casseday (85) auch im lateralen ma-Bereich gefunden. Auch in der vorliegenden Arbeit reichten tieffrequente (23 kHz) Terminalbereiche, die wahrscheinlich einer Projektion in den ventralen DCN entsprechen, in den

dorsalen Bereich der mal-Gruppe hinein.

Interessanterweise nimmt die mediale ma-Gruppe nicht nur hinsichtlich ihrer Frequenzrepräsentation eine Sonderstellung ein, sondern auch bezüglich ihrer Innervierung durch zentrale Neuronensysteme. Die Dichte der Innervation durch catecholaminerge und acetylcholinerge Nervenfasern ist in der medialen ma-Gruppe deutlich höher als im angrenzenden AV (Kössl et al. in Vorbereitung.).

Ein großer Teil der mam-Neurone ist auf die FM1 Frequenzen abgestimmt (bb.23) und antwortet vorwiegend phasisch. In höheren Stationen der aufsteigenden Hörbahn, am besten untersucht im Hörcortex (O'Neill und Suga 79,82), existieren Neurone, die nur dann auf ortungsrelevante hohe Frequenzen (FM2,3,4 und CF2,3) antworten, wenn ihnen zeitlich vor dem hochfrequenten Ton ein FM1-Reiz geboten wird. Verschiedene Neurone sind dabei spezialisiert auf unterschiedliche Zeitverzögerungen zwischen den zwei Reizen. Auf die Echoortung bezogen, ist es möglich, daß das Tier beim Ausstoßen eines Ortungslautes den tieffrequenten FM1-Anteil bevorzugt wahrnimmt und ihn als Anzeiger verwendet, der ihm sagt, daß nun mit wenigen ms Verzögerung ein wichtiges hochfrequentes Echo zu erwarten ist. Weniger antropomorph gesprochen: Der FM1-Puls kann als Trigger zum Öffnen von Zeitfenstern für die Wahrnehmung der höheren Frequenzen dienen. Die medialen ma-Neurone könnten bereits speziell für eine solche Triggerfunktion abgestellt sein. Dafür spricht auch die hohe Innervierungsdichte durch catecholaminerge (mutmaßlich noradrenerge) Fasern, denn das noradrenerge System scheint vor allem dann aktiv zu sein, wenn Tiere sich in einer Orientierungssituation befinden und auf neue Sinnesreize achten (Foote et al. 80). Für die ma-Zellen könnte dies bedeuten, daß dann eine spezielle Modulation ihrer Verarbeitung bewirkt wird. Diese Modulation könnte in einer Verbesserung des Signal/Rauschverhältnisses oder in einer Verkürzung der neuronalen Latenz bestehen.

6. Literatur

- Adams JC (1977) Technical considerations on the use of horseradish peroxidase as a neuronal marker. *Neuroscience* 2: 142-145
- Bekesy G von (1960) *Experiments in hearing*. McGraw-Hill Book Company, New York Toronto London
- Bishop A, Henson OW Jr., Henson MM, Jenkins DB (1985) The efferent olivocochlear system in the mustache bat, Pteronotus p. parnellii. In DJ Lim (ed) *Abstracts of the eight midwinter research meeting of the Association for Research in Otolaryngology*, Clearwater Beach, Florida, pp 27-28
- Brownell WE, Bader CR, Bertrand D, de Ribaupierre Y (1985) Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. *Science* 227: 194-196
- Bruns V (1976) Peripheral auditory tuning for fine frequency analysis by the CF-FM bat, Rhinolophus ferrumequinum II. Mechanical specializations of the cochlea. *J Comp Physiol* 106:77-86
- Carlier E, Pujol R (1982) Sectioning the efferent bundle decreases cochlear frequency selectivity. *Neurosci letters* 28: 101-106
- Dallos P (1985) Response characteristics of mammalian cochlear hair cells. *J Neuroscience* 5: 1591-1608
- Davis H (1965) A model for transducer action in the cochlea. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 30: 181-189
- DeRosier DJ, Tilney LG, Egelman E (1980) Actin in the inner ear: the remarkable structure of the stereocilium. *nature* 287: 291-296
- Desmedt JE, Monaco P (1961) Mode of action of efferent olivo-cochlear bundle on the inner ear. *nature* 192: 1263-1265
- Duifhuis H, Vater M (1985) On the mechanics of the horseshoe bat cochlea. In JB Allen, JL Hall, A Hubbard, ST Neely, and A Tubis (eds): *Peripheral auditory mechanisms*. Springer, Berlin, pp. 89-96
- Evans EF (1972) The frequency response and other properties

- of single fibers of the guinea-pig auditory nerve. *J Physiol (London)* 226:263-287
- Evans EF (1975) Cochlear nerve and cochlear nucleus. In: Keidel WD, Neff WD (eds) *Handbook of Sensory Physiology*, Vol 5/2. Springer, Berlin pp 1-108
- Evans EF, Nelson PG (1973a) The responses of single neurons in the cochlear nucleus of the cat as a function of their location and anaesthetic state. *Exp Brain Res* 17: 402-427
- Evans EF, Nelson PG (1973b) On the functional relationship between the dorsal and ventral divisions of the cochlear nucleus of the cat. *Exp Brain Res* 17: 428-442
- Feng AS, Vater M (1985) Functional organization of the cochlear nucleus of rufous horseshoe bats (*Rhinolophus rouxi*): frequencies and internal connections are arranged in slabs. *J Comp Neurol* 235: 529-553
- Flock A, Cheung H (1977) Actin filaments in sensory hairs of inner ear receptor cells. *J Cell Biol* 75: 339-343
- Foote SL, Aston-Jones G, Bloom FE (1980) Impulse activity of locus ceruleus neurons in awake rats and monkeys is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc Natl Aca Sci USA* 77: 3033-3037
- Galambos R (1956) Suppression of auditory nerve activity by stimulation of efferent fibers to cochlea. *J Neurophysiol* 19: 424-437
- Goldner J (1938) A modification of the Masson trichrome technique for routine laboratory use. *Am J Pathol* 14: 237-243
- Grinnell AD (1970) Comparative auditory neurophysiology of neotropical bats employing different echolocation signals. *Z Vergl Physiol* 68: 117-153
- Guinan JJ (1986) Effect of efferent neural activity on cochlear mechanics. *Scand Audiol Suppl* 25: 53-62
- Guinan JJ, Warr WB, Norris BE (1983) Differential olivocochlear projections from lateral vs. medial zones of the superior olivary complex. *J Comp Neurol* 221: 358-370
- Henson MM (1973) Unusual nerve-fiber distribution in the cochlea of the bat *Pteronotus p. parnellii* (Gray). *J*

Acoust Soc Am 53: 1739-1740

- Henson MM (1978) The basilar membrane of the bat, Pteronotus p. parnellii. Am J Anat 153: 143-158
- Henson MM, Henson OW jr., Goldman LJ (1977) The perilymphatic spaces in the cochlea of the bat, Pteronotus p. parnellii (Gray). Anat Rec 187: 767
- Henson MM, Henson OW jr., Jenkins DB (1984) The attachment of the spiral ligament of the cochlear wall: Anchoring cells and the creation of tension. Hearing Res 16: 231-242
- Henson OW jr. (1970) The ear and audition. In: Wimsatt WA (ed) Biology of bats. Academic Press, New York, pp 181-263
- Henson OW jr., Pollak GD (1972) A technique for chronic implantation of electrodes in the cochleae of bats. Physiol Behav 8: 1185-1188
- Henson OW Jr., Pollak GD, Kobler JB, Henson MM, Goldman LJ (1982) Cochlear microphonic potentials elicited by bisonar signals in flying bats, Pteronotus p. parnellii. Hearing Res 7: 127-147
- Henson OW jr., Schuller G, Vater M. (1985) A comparative study of the physiological properties of the inner ear in Doppler shift compensating bats (Rhinolophus rouxi and Pteronotus parnellii). J Comp Physiol A 157: 587-597
- Henson OW jr., Bishop A, Keating A, Kobler J, Henson M, Wilson B, Hansen R (1987) Bisonar Imaging of Insects by Pteronotus p. parnellii, the mustached bat. National Geographic Research 3(1): 82-101
- Irvine DRF (1986) The auditory brainstem. In D Ottoson (ed) Progress in sensory physiology 7. Springer Verlag, Berlin
- Jenkins DB, Henson MM, Henson OW jr. (1983) Ultrastructure of the lining of the scala tympani of the bat, Pteronotus parnellii. Hearing Res 11:23-32
- Kemp DT (1978) Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. J Acoust Soc Am 64: 1386-1391
- Kemp DT (1979) The evoked cochlear mechanical response and the auditory microstructure - evidence for a new element in cochlear mechanics. Scand Audiol Suppl 9: 35-47
- Kemp DT, Chum RA (1980) properties of the generator of

- stimulated acoustic emissions. Hearing Res 2: 213-232
- Kössl M, Vater M (1985) Evoked acoustic emissions and cochlear microphonics in the mustache bat, Pteronotus parnellii. Hearing Res 19: 157-170
- Kössl M, Vater M, Schweizer H. Distribution of catecholamine fibers in the cochlear nucleus of horseshoe bats and mustache bats, Rhinolophus rouxi and Pteronotus parnellii. In Vorbereitung
- Lee C, Malpeli JP (1986) Somata-selective lesions induced by cobaltous chloride: a parametric study. Brain Res 364: 396-399
- Liberman MC (1982) The cochlear frequency map for the cat: Labelling of auditory nerve fibers of known characteristic frequency. J Acoust Soc Am 72: 1441-1449
- Liberman MC, Brown MC (1986) Physiology and anatomy of single olivocochlear neurons in the cat. Hearing Res 24: 17-36
- Long GR, Schnitzler HU, (1975) Behavioral audiograms from the bat, Rhinolophus ferrumequinum. J Comp Physiol 100: 211-219
- Lorente de No R (1933) Anatomy of the eighth nerve. The central projection of the nerve endings of the internal ear. Laryngoscope 43: 1-38
- Macartney JC, Comis SD, Pickles JO (1980) Is myosin in the cochlea a basis for active motility? nature 288: 491-492
- Malpeli JP, Schiller PH (1979) A method of reversible inactivation of small regions of brain tissue. J Neurosci Methods 1: 143-151
- Malpeli JP, Burch BD (1982) Cobalt destroys neurons without destroying fibers of passage in the lateral geniculate nucleus of the cat. Neurosci letters 32: 29-34
- Mesulam MM (1978) Tetramethyl benzidine for horseradish peroxidase neurohistochemistry: Incubation parameters and visibility. J Histochem Cytochem 24: 1273-1280
- Mountain DC (1980) Changes in endolymphatic potential and crossed olivocochlear bundle stimulation alter cochlear mechanics. Science 210: 71-72
- Neuweiler G, Vater M (1977) Response patterns to pure tones of cochlear nucleus units in the CF-FM bat Rhinolophus

- ferrumequinum. J Comp Physiol 115: 119-133
- Neuweiller G, Bruns V, Schuller G (1980) Ears adapted for the detection of motion, or how echolocating bats have exploited the capacities of the mammalian auditory system. J Acoust Soc Am 68: 741-753
- Nieder P, Nieder I (1970) Antimasking effect of crossed olivocochlear bundle stimulation with loud clicks in guinea pigs. Exp Neurol 28: 179-188
- O'Neill WE, Suga N (1979) Target range-sensitive neurons in the auditory cortex of mustache bats. Science 203: 69-73
- O'Neill WE, Suga N (1982) Encoding of target range and its representation in the auditory cortex of the mustached bat. J Neurosci 2: 17-31
- Osen KK (1970) Course and termination of the primary afferents in the cochlear nuclei of the cat. An experimental anatomical study. Arch Ital Biol 108: 21-51
- Pickles JO (1982) An introduction to the physiology of hearing. Academic Press, London.
- Pollak GD, Henson OW Jr., Novick A (1972) Cochlear microphonic audiograms in the 'pure tone' bat Chilonycteris parnellii parnellii. Science 176: 66-68
- Pollak GD, Henson OW Jr., Johnson R (1979) Multiple specializations in the peripheral auditory system of the CF-FM bat Pteronotus parnellii. J Comp Physiol 131: 255-266
- Pye A (1980) The cochlea in Pteronotus parnellii. In Busnel RG, Fish JF (eds) Animal Sonar systems. Plenum Press, New York, pp 965-967
- Ramon y Cajal S (1909) Histologie du systeme nerveux de l'homme et des vertebres. Maloine, Paris
- Rasmussen GL (1946) The olivary peduncle and other fiber connections of the superior olivary complex. J Comp Neurol 84: 141-219
- Rhode WS (1978) Some observations on cochlear mechanics. J Acoust Soc Am 64:158-176
- Russell IJ, Sellick PM (1978) Intracellular studies of hair cells in the guinea pig cochlea. J Physiol (London) 284:261-290.
- Schnitzler HU (1970) Echoortung bei der Fledermaus

- Chilonycteris rubiginosa. Z Vergl Physiol 68:25-38
- Schuller G (1980) Hearing characteristics and Doppler shift compensation in South Indian CF-FM bats. J Comp Physiol 139: 349-356
- Siegel JH, Kim DO (1982) Efferent neural control of cochlear mechanics? Olivocochlear bundle stimulation affects cochlear biomechanical nonlinearity. Hearing Res 6: 171-182
- Spoendlin H (1973) The innervation of the cochlear receptor. In: Moller A (ed) Basic mechanisms in hearing, Academic Press, New York London, pp 185-235
- Suga N (1984) Neural mechanisms of complex-sound processing for echolocation. Trends in Neurosci 7: 20-27
- Suga N, Simmons JA, Jens PH-S (1975) Peripheral specializations in fine frequency analysis of Doppler-shifted echoes in the auditory system of the CF-FM bat, Pteronotus parnellii. J Exp Biol 63: 161-192
- Suga N, Jen PH-S (1977) Further studies on the peripheral auditory system of CF-FM bats specialized for fine frequency analysis of Doppler shifted echoes. J Exp Biol 69: 207-232
- Tasaki I, Davis H, Eldredge DH (1954) Exploration of cochlear potentials in guinea pig with a microelectrode. J Acoust Soc Am 26: 765-773
- Thomas IB (1975) Microstructure of pure tone threshold. J Acoust Soc Am 57: 26-27
- Vater M, Feng AS, Betz M (1985) An HRP-study on the frequency place map of the horseshoe bat cochlea: Morphological correlates of the sharp tuning to a narrow frequency band. J Comp Physiol A 157:671-686
- Voigt HF, Young ED (1980) Evidence for inhibitory interactions between neurons in dorsal cochlear nucleus. J Neurophysiol 44: 76-96
- Warr WB, Guinan JJ (1979) Efferent innervation of the organ of Corti: two separate systems. Brain Res 173: 152-155
- Wiederhold ML, Kiang NYS (1970) Effects of electrical stimulation of the crossed olivocochlear bundle on single auditory nerve fibers in the cat. J Acoust Soc Am 48: 950-965

- Wilson JP (1980a) Evidence for a cochlear origin for acoustic reemissions, threshold fine-structure and tonal tinnitus. *Hearing Res* 2: 233-252
- Wilson JP (1980b) Model for cochlear echoes and tinnitus based on an observed electrical correlate. *Hearing Res* 2: 527-532
- Zenner HP (1986) Motile responses in outer hair cells. *Hearing Res* 22: 83-90
- Zenner HP, Zimmermann A, Schmitt U (1985) Reversible contractions of isolated mammalian cochlear hair cells. *Hearing Res* 18: 127-133
- Zook JM, Casseday JH (1982) Cytoarchitecture of auditory system in lower brainstem of the mustache bat, Pteronotus parnelli. *J Comp Neurol* 207: 1-13
- Zook JM, Casseday JH (1985) Projections from the cochlear nuclei in the mustache bat, Pteronotus parnelli. *J Comp Neurol* 237: 307-324
- Zwicker E (1981) Masking period patterns and cochlear acoustical responses. *Hearing Res* 4: 195-202
- Zwicker E (1983) Delayed evoked oto-acoustic emissions and their suppression by Gaussian-shaped pressure impulses. *Hearing Res* 11: 359-371
- Zwicker E, Manley G (1981) Acoustical responses and suppression-period patterns in guinea pigs. *Hearing Res* 4: 43-52
- Zwicker E, Schloth E (1984) Interrelation of different oto-acoustic emissions. *J Acoust Soc Am* 75: 1148-1154
- Nachtrag:
- Rajan R, Johnstone BM (1983) Efferent effects by electrical stimulation at the round window of the Guinea pig. *Hearing Res* 12: 405-417

Mein besonderer Dank gilt Dr. Marianne Vater für die Themenstellung und aufmunternde Unterstützung während dieser Arbeit sowie für stoische Ruhe (Ausnahmen eingeschlossen) hinsichtlich geringerer Verwüstungen ihres Labors.

Ich danke Prof. G. Neuweiler für wichtige Impulse und lebhaftes Interesse am Fortgang dieser Arbeit sowie allen Mitgliedern der Fledermausgruppe für ihre Hilfsbereitschaft und anregende Diskussion.

Für wichtige Diskussionen besonders in Hinblick auf die otoakustischen Emissionen danke ich Prof. E. Zwicker und den Mitgliedern des SFB 204 'Gehör'.

Frau H. Tscharncke danke ich für ihre ausgezeichneten Fotoarbeiten und viel Geduld im Umgang mit erratischen Doktoranden.

Lebenslauf Manfred Kössl

- 7.9.1958 geboren in München
- 1964 - 1968 Besuch der Grundschule
München, Schleißheimerstraße
- 1968 - 1969 Besuch des Gisela-Gymnasiums,
München, Elisebethplatz
- 1969 - 1977 Besuch des Max-Planck-Gymnasiums
München, Pasing
- Juni 1977 Abitur
- 1977 - 1978 Zwei Semester Physikstudium an der LMU München
- 1978 - 1980 Biologiestudium an der LMU München
- 1980 Vordiplom an der LMU
- 1981 - 1982 Biologiestudium an der Universität Tübingen
Kurse und Seminare am MPI Entwicklungsbiologie
und MPI Biokybernetik, Tübingen
- 1982 - 1983 Biologiestudium an der LMU München
- 1983 Diplomprüfung in Zoologie, Biochemie und Genetik
- 1984 Diplomarbeit über otoakustische Emissionen und
Mikrophonpotentiale bei der Schnurrbartfledermaus
in der Abteilung von Prof. Neuweiler
- 1984 Beginn der Doktorarbeit
- 1985 4-monatiger USA Aufenthalt (DAAD-Stipendium)
zur Erlernung neurophysiologischer Techniken:
- auditorische Pharmakologie im Labor von D.
Caspary, Springfield, Illinois
- reversible physiologische Inaktivierungen im
Labor von J. Malpeli, Champaign, Illinois

